

Aus dem  
Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut  
und  
der Klinik für Kleintiere der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Vergleichende Untersuchungen der Fettsäurezusammensetzung  
in Erythrozytenmembranen und im Plasma von atopischen und  
gesunden Hunden**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)  
durch die Veterinärmedizinische Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von  
Annett Zimmermann  
aus Gera

Leipzig, 2006

*Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig*

*Dekan:* Prof. Dr. Karsten Fehlhaber

*Betreuer:* Prof. Dr. Herbert Fuhrmann  
Prof. Dr. Gerhard Oechtering

*Gutachter:* Prof. Dr. Herbert Fuhrmann, Veterinär-Physiologisch-Chemisches  
Institut, Universität Leipzig  
  
Prof. Dr. Gerhard Oechtering, Klinik für Kleintiere, Universität Leipzig  
  
PD Dr. Annette Zeyner, Institut für Tierernährung,  
Ernährungsschäden und Diätetik, Universität Leipzig  
  
Prof. Dr. Manfred Kietzmann, Institut für Pharmakologie, Toxikologie  
und Pharmazie, TiHo Hannover

*Tag der Verteidigung:* 1. Dezember 2005

**Meinen Eltern  
und meiner kleinen Familie  
in Liebe gewidmet**



**Inhaltsverzeichnis**

	Seite
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2 Literaturübersicht</b>	<b>3</b>
<b>2.1 Canine Atopische Dermatitis (CAD)</b>	<b>3</b>
2.1.1 Wesen und Vorkommen	3
2.1.2 Pathogenetische Mechanismen	4
2.1.3 Klinik und Diagnostik	8
2.1.4 Therapeutische Maßnahmen	10
2.1.4.1 Vermeidung von Allergenen und Allergenkontakten	10
2.1.4.2 Pharmakotherapie	10
2.1.4.2.1 Behandlung mit Glucocorticoiden	10
2.1.4.2.2 Behandlung mit Calcineurininhibitoren	12
2.1.4.2.3 Behandlung mit Typ-1-Histaminrezeptor-Antagonisten	12
2.1.4.2.4 Weitere Anwendungen der Pharmakotherapie	13
2.1.4.3 Allergenspezifische Immunotherapie	13
<b>2.2 Fettsäuren und ihre Bedeutung für Stoffwechsel und Therapie</b>	<b>14</b>
2.2.1 Biochemie der Fettsäuren	14
2.2.2 Bildung und Bedeutung von Lipidmediatoren für Entzündungsvorgänge	17
2.2.3 Immunmodulation durch Fettsäuren	20
2.2.4 Fettsäuren und ihre Bedeutung für die epidermale Lipidbarriere	20
2.2.5 Fettsäurenmetabolismus bei atopischen und anderen entzündlichen Hauterkrankungen	21
2.2.6 Fettsäuren der Erythrozytenmembranen	22
2.2.7 Therapeutischer Einsatz von Fettsäuren	24
2.2.7.1 Einsatz von Fettsäuren bei der Atopischen Dermatitis (AD) des Menschen	24
2.2.7.2 Therapeutischer Einsatz von Fettsäuren zur Behandlung der CAD	25
<b>2.3 Vitamin E</b>	<b>27</b>
2.3.1 Definition, Chemie und Vorkommen in Nahrungs- und Futtermitteln	27
2.3.2 Aufnahme und Plasmagehalt des Vitamin E	28
2.3.3 Funktionen des Vitamin E	28
2.3.4 Therapeutischer Einsatz von Vitamin E bei allergisch bedingten Hauterkrankungen	29
<b>3 Material und Methoden</b>	<b>31</b>
<b>3.1 Auswahl der Hunde</b>	<b>31</b>
3.1.1 Anamnese, Klinisches Bild	32
3.1.2 Atopietests	33

	Seite
3.1.2.1 Intrakutantest	33
3.1.2.2 IgE-Tests	34
<b>3.2 Gewinnung des Probenmaterials</b>	<b>35</b>
<b>3.3 Aufarbeitung des Probenmaterials und Bestimmung der ausgewählten Parameter</b>	<b>35</b>
3.3.1 Präparation der Erythrozytenmembranen	35
3.3.2 Lipidextraktion	36
3.3.3 Dünnschichtchromatographie	36
3.3.4 Densitometrie	37
3.3.4.1 Bestimmung der Phospholipide	38
3.3.4.2 Bestimmung des Cholesterols	38
3.3.5 Fettsäurenbestimmung	39
3.3.5.1 Probenvorbereitung	39
3.3.5.2 Gaschromatographie	39
3.3.6 Rechnerische Bestimmung der Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen	40
3.3.7 Bestimmung des Vitamin E - Gehaltes im Plasma	41
3.3.7.1 Vorbereitung der Proben	41
3.3.7.2 Messung des Vitamin E mittels HPLC	41
3.3.8 Cholesterol- und Triacylglycerinbestimmung im Plasma	41
<b>3.4 Statistische Verfahren</b>	<b>42</b>
<b>4 Ergebnisse</b>	<b>43</b>
<b>4.1 Ergebnisse der Atopietests</b>	<b>43</b>
4.1.1 Intrakutantest	43
4.1.2 IgE-Tests	44
<b>4.2 Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen und Fettsäuremuster der Lipidfraktionen</b>	<b>47</b>
4.2.1 Gehalt der n6- und n3-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen	47
4.2.2 Summe der n6- und n3-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen und Verhältnis der beiden Fettsäurenfamilien zueinander	48
4.2.3 Gehalt der n6- und n3-Fettsäuren in den Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen	49
4.2.3.1 Gehalt der n6-Fettsäuren in den Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen	49
4.2.3.2 Gehalt der n3-Fettsäuren in den Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen	52
4.2.4 Verhältnisse ausgewählter n6-Fettsäuren der Erythrozytenmembranen	53

	Seite
<b>4.3 Anteil der einzelnen Lipidfraktionen am Gesamtgehalt der Membranlipide</b>	54
<b>4.4 Fettsäuregehalte im Plasma</b>	56
<b>4.5 Cholesterol- und Triacylglyceringehalte im Plasma</b>	56
<b>4.6 Vitamin E – Gehalt im Plasma</b>	57
<b>5 Diskussion</b>	58
<b>5.1 Diskussion der Methoden</b>	58
5.1.1 Auswahl der Hunde und Ausschlusskriterien	58
5.1.2 Gewinnung und Bearbeitung der Proben	60
5.1.3 Durchführung und Bewertung der Allergietests	61
5.1.3.1 Intrakutantest	61
5.1.3.2 IgE-Tests	63
<b>5.2 Diskussion der Ergebnisse</b>	65
5.2.1 Gehalte der Phospholipidfraktionen in Erythrozytenmembranen	65
5.2.2 Cholesterol- und Triacylglyceringehalte im Plasma	67
5.2.3 Vitamin E-Gehalt im Plasma	68
5.2.4 Unterschiede im Gehalt der n6- und n3-Fettsäuren bei den an CAD erkrankten im Vergleich zu den gesunden Hunden	69
5.2.4.1 Gehalt der n6-Fettsäuren	69
5.2.4.2 Gehalt der n3-Fettsäuren	72
5.2.4.3 Summe der n6- bzw. n3- Fettsäuren und Verhältnis der Fettsäurenfamilien zueinander	73
5.2.4.4 Veränderte Fettsäuren in den einzelnen Phospholipidfraktionen	74
<b>5.3 Schlussfolgerung</b>	75
<b>6 Zusammenfassung</b>	77
<b>7 Summary</b>	79
<b>8 Literaturverzeichnis</b>	81
<b>9 Anhang</b>	
<b>9.1 Tierdaten, Befundbögen der an atopischer Dermatitis erkrankten Hunde</b>	
<b>9.2 Materialien</b>	
9.2.1 Chemikalien	
9.2.2 Verbrauchsmaterial	

**9.3      Herstellung der Lösungen**

**9.4      Ergebnistabellen**



**Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen**

AA	Arachidonsäure
Abb.	Abbildung
AD	Atopische Dermatitis
ALA	$\alpha$ -Linolensäure
ANOVA	Varianzanalyse
APZ	Antigenpräsentierende Zellen
ASIT	Allergenspezifische Immunotherapie
BHT	Buthylhydroxytoluol
BSO	Borretschsamenöl
CAD	Canine Atopische Dermatitis
CoA	Coenzym A
COX	Cyclooxygenase
DC	Dünnschichtchromatographie
CsA	Cyclosporin A
DGLA	Dihomogammalinolensäure
DHA	Docosahexaensäure
DPA	Docosapentaensäure
EFA	Essentielle Fettsäure
EIA	Enzyme-Immunoassay
ELISA	Enzyme-Linked Immonosorbent Assay
EM	Erythrozytenmembranen
EPA	Eicosapentaensäure
EPO	Nachtkerzenöl
ETA	Eicosatetraensäure
FAME	Fettsäurenmethylester
FO	Fischöl
FS	Fettsäure
GC	Gaschromatographie
GLA	Gammalinolensäure
Glc	Glucocorticoid/e
GM-CSF	Granulozyten/Makrophagen koloniestimmulierender Faktor
HEPE	Hydroxyeicosapentaensäure
HETE	Hydroxyeicosatetraensäure
HETrE	Hydroxyeicosatriensäure
HDL	Lipoproteine hoher Dichte
HoDHE	Hydroxydocosahexaensäure

HPETE	Hydroxyperoxyeicosatetraensäure
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRP	Horseradish Peroxidase
Ig	Immunglobulin
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IS	Interner Standard
KG	Körpergewicht
KM	Körpermasse
LA	Linolsäure
LDL	Lipoproteine niedriger Dichte
LOX	Lipoxygenase
LT	Leukotrien
MHC	Haupthistokompatibilitätskomplex
mRNA	Messenger Ribonucleinsäure
MD	Mittelwertdifferenz
MUFA	Einfach ungesättigte Fettsäure
MW	Arithmetischer Mittelwert
n	Anzahl der Stichprobe
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Prostaglandin
PI	Phosphatidylinositol
PL	Phospholipase
PNU	Protein-Stickstoff-Einheit
PPAR	Peroxisomproliferatoren-Aktivierender Rezeptor
PS	Phosphatidylserin
PUFA	Mehrfach ungesättigte Fettsäure
RAST	Radioallergosorbent-Test
RIA	Radio-Immunoassay
RF	Responsfaktor
SD	Standardabweichung
sec	Sekunde
SM	Sphingomyelin
SPF	Spezifisch-pathogen-frei
Tab.	Tabelle
TH	T-Helfer-Lymphozyten

TF	Trockenfutter
TNF	Tumornekrosefaktor
UFA	Ungesättigte Fettsäure
VLDL	Lipoproteine sehr niedriger Dichte



## 1 Einleitung

Die canine atopische Dermatitis (CAD) des Hundes ist eine mit Juckreiz verbundene allergische Erkrankung der Haut, die in den letzten Jahren häufiger auftritt. Die Ursachen dafür sind nicht eindeutig geklärt. Von Bedeutung scheinen neben genetischen Defekten vor allem immunologische Faktoren und Umwelteinflüsse, wie z.B. Haltung oder Fütterung zu sein.

Die CAD ist in ihrer klinischen Symptomatik vergleichbar mit der atopischen Dermatitis (AD) des Menschen. Sie ist eine allergische Reaktion vom Soforttyp, die durch die Freisetzung zahlreicher Entzündungsmediatoren ausgelöst wird (HILLIER u. GRIFFIN 2001). Eine wichtige Funktion übernehmen entzündungsfördernde Lipidmediatoren. Diese werden aus den Fettsäuren der membranständigen Phospholipide nach ihrer Freisetzung durch Phospholipasen gebildet. Die Linolsäure (LA) und die  $\alpha$ -Linolensäure (ALA), sowie die aus diesen durch  $\Delta 6$ -,  $\Delta 5$ -Desaturierung und Elongation gebildeten Fettsäuren der n6- und n3-Fettsäurenfamilien sind Vorstufen für die Bildung dieser Lipidmediatoren.

In einer sehr frühen humanmedizinischen Studie mit atopischen Patienten wurden erniedrigte Serumspiegel der Arachidonsäure gefunden (BROWN u. HANSEN 1937). Später folgten weitere verschiedene humanmedizinische Studien, bei denen eine verringerte Metabolisierung von Fettsäuren bei atopisch erkrankten Menschen aufgezeigt wurde (MANKU et al. 1984, LINDSKOV und HOLMER 1992). Es wird vermutet, dass die Ursache hierfür auf einer herabgesetzten oder fehlenden Aktivität der  $\Delta 6$ - und/oder der  $\Delta 5$ -Desaturase beruht. Den zahlreichen humanmedizinischen Studien steht eine kleine Anzahl von Untersuchungen bei atopisch erkrankten Hunden gegenüber. In diesen Studien wurde der Fettsäuregehalt im Serum (SCOTT et al. 1997, SAEVIK et al. 2002) und in der Haut (TAUGBOL et al. 1998) der Hunde untersucht. Keine Veränderung ergaben sich bei den n3- und n6-Fettsäuren des Serums und lediglich ein verringerter Gehalt der C22:4n6 (Adrensäure) wurde in der Haut atopischer Hunde ermittelt. SAEVIK et al. (2002) wiesen aus diesem Grund auf die Möglichkeit einer Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung der Membranen der Blutzellen hin.

Die Fettsäurezusammensetzung von Erythrozytenmembranen ist ein Marker für das Zusammenspiel der diätetischen Aufnahme von Fetten, endokriner Veränderungen und Umwelteinflüsse (PALA et al. 2001, ZAMARIA 2004).

Aufgrund einer möglicherweise herabgesetzten Metabolisierung der LA und ALA sowie der daraus folgenden veränderten Bildung von verschiedenen Entzündungsmediatoren, stellt die Supplementierung von ungesättigten langkettigen Fettsäuren einen therapeutischen Ansatzpunkt bei der Behandlung der atopischen Erkrankung dar. Die verschiedenen humanmedizinischen Studien zur oralen Supplementierung von Fettsäuren wurden von VAN GOOL et al. (2004) in einer Metaanalyse zusammengefasst. Die Ergebnisse dieser Studien differieren stark. Hinsichtlich der therapeutischen Wirksamkeit von Fettsäuren konnte in einigen Arbeiten ein positiver Effekt ermittelt werden. Allerdings zeigten andere Studien keinerlei Besserung der Symptome bei atopischen Patienten durch eine Gabe von Fettsäuren. OLIVRY et al. (2001b) fassten die durchgeführten klinischen Studien beim Hund zusammen und fanden ebenfalls differierende Angaben über eine Verbesserung der klinischen Symptomatik.

In der vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, ob eine veränderte Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen bei an Atopie erkrankten Hunden im Vergleich zu gesunden Tieren besteht und somit die Supplementierung mit verschiedenen Fettsäuren gerechtfertigt erscheint.

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Canine Atopische Dermatitis (CAD)**

#### **2.1.1 Wesen und Vorkommen**

Die Atopische Dermatitis wird definiert als eine genetisch prädisponierte, entzündliche und mit Juckreiz verbundene allergische Hauterkrankung mit charakteristischen klinischen Anzeichen, die im Allgemeinen mit der Ausbildung von IgE-Antikörpern gegen verschiedene Umweltantigene verbunden ist. Sie ist die häufigste klinisch manifeste atopische Erkrankung des Hundes. Desweiteren wird die CAD als zweithäufigste Ursache von mit Juckreiz verbundenen Hauterkrankungen beim Hund beschrieben (SCOTT et al. 2001). Beim Menschen sind die Atopische Konjunktivitis, die Atopische Rhinitis und das Atopische Asthma weitere klinische Manifestationen der Atopie (OLIVRY et al. 2001a).

Über die Anzahl der Hunde einer Population, bei denen eine CAD diagnostiziert wurde, sind verschiedene Daten veröffentlicht worden. Die Angaben differieren zwischen 3,3 % (HALLIWELL u. SCHWARTZMANN 1971) und 30 % (NESBITT 1978). Die tatsächliche Häufigkeit des Vorkommens der CAD ist jedoch laut HILLIER und GRIFFIN (2001) nicht bekannt. Als Ursache für die verschiedenen Angaben werden die unterschiedlichen geographischen und klimatischen Bedingungen, aber auch die nicht einheitlich definierten Diagnosekriterien für die CAD genannt. So werden oftmals milde klinische Fälle nicht diagnostiziert, oder typische klinische Anzeichen, z.B. eine chronische Otitis externa, nicht dieser Hauterkrankung zugeordnet.

Ein vermehrtes Auftreten der Atopie beim Menschen wird von VON MUTIUS (2000) mit einem ansteigenden Allergen- und Pollengehalt, sinkender Familiengröße, geringerer mikrobieller Belastung und damit weniger Infektionsmöglichkeiten im Kindes- und Jugendalter, sowie geänderten Ernährungsgewohnheiten in Verbindung gebracht. HILLIER und GRIFFIN (2001) sind ebenfalls der Meinung, dass veränderte Haltungs- und Fütterungsbedingungen mögliche Ursachen für eine erhöhte Allergenbelastung beim Hund sein könnten, aber aufgrund unvollständiger Daten eine Aussage über die Gründe des ansteigenden Auftretens der CAD nicht möglich ist.

Neben den Umwelteinflüssen konnte in einigen Untersuchungen eine Rassedisposition für die CAD aufgezeigt werden, z.B.:

HALLIWELL und SCHWARTZMANN (1971), USA

Foxterrier, West Highland White Terrier, Scotch Terrier, Dalmatiner

NESBITT (1978), USA

Deutscher Schäferhund, Irisch Setter, Pudel

WILLEMSE und VAN DEN BROM (1983), Niederlande

Boxer, Terrier, Deutscher Schäferhund, Pudel

KOCH und PETERS (1994), Deutschland

Boxer, Bull Terrier, West Highland White Terrier, Chow Chow.

STURE et al. (1995), Großbritannien

Boxer, Labrador Retriever, West Highland White Terrier

Aufgrund des gehäuftten Auftretens bei bestimmten Rassen vermuten SOUSA und MARSELLA (2001), dass eine genetische Prädisposition für diese Erkrankung besteht. De WECK et al. (1997) stellten in ihrer Studie mit experimentell sensibilisierten Hunden fest, dass die Bildung hoher IgE-Niveaus gegen eine Vielzahl von Allergenen ein genetisches Merkmal ist und dominant vererbt wird.

Für die Entstehung der CAD scheinen ebenfalls Unterschiede in den MHC-Komplexen des Hundes von Bedeutung zu sein. Diese können in 4 Klassen (Dog Leukocyte Antigen-A, DLA-B, -C und -D) mit unterschiedlichen Haplotypen eingeteilt werden. VRIESENDROP et al. (1975) untersuchten die der MHC-Komplexe als mögliche genetische Ursache von Krankheiten und insbesondere von der CAD. In dieser Versuchsstudie konnte keine eindeutige Beziehung zwischen den ermittelten serologischen DLA-A Gruppen und der Atopie des Hundes gezeigt werden. Die Untersucher vermuten, dass der DLA-A Haplotyp 9.4 Schutz gegen die Krankheit bietet, da es mit erheblich geringerer Frequenz bei den an Atopie erkrankten Hunden auftrat. Der Haplotyp 3, R15 wurde häufiger bei atopischen als bei den normalen Tieren gefunden und steht wahrscheinlich in Beziehung zu einer größeren Anfälligkeit für die Atopie. Es könnten somit auch genetisch bedingte Veränderungen des Immunsystems an der Entstehung der CAD beteiligt sein.

OLIVRY et al. (1999) ermittelten in einer Studie eine signifikante Erhöhung des Gehaltes an mRNA für IL-4 bei Hunden mit atopisch veränderter, verglichen zu Hunden mit gesunder Haut. Hingegen wurde bei der Bestimmung der mRNA des IL-6 und des IL-10 in atopisch veränderter und gesunder Haut von Hunden kein signifikanter Unterschied entdeckt (NUTTALL et al., 2002). Jedoch konnte in dieser Studie ein signifikant niedrigerer Gehalt der mRNA für TNF $\beta$  in der atopisch veränderten Haut gefunden werden.

HEISHI et al. (2003) induzierten unter SPF-Bedingungen durch die intradermale Applikation eines Milbenantigens Hautläsionen bei Mäusen, die dem Erscheinungsbild der AD ähnlich sind, und fanden eine größere Anzahl von Zellen mit einem erhöhten Gehalt von mRNA für IL-4, IL-4a, IL-5 und IL-13. Bei chronischer AD-Symptomatik ermittelten sie dann eine Verringerung der mRNA für IL-4 und IL-13 sowie eine ansteigende Zahl IL-5-, GM-CSF-, IL-12- und IFN-gamma-mRNA exprimierender Zellen.

Hinsichtlich einer Geschlechtsprädisposition haben NESBITT (1978) mehr männliche und HALLIWELL und SCHWARTZMANN (1971), SCOTT (1981) und ZUR et al. (2002) mehr weibliche Tiere gefunden, die an CAD erkrankt waren.

EDMONDS (1980), WILLEMSE und VAN DEN BROM (1983) und MASUDA et al. (2000) konnten kein gehäuftes Auftreten der CAD bei einem bestimmten Geschlecht feststellen.

### 2.1.2 Pathogenetische Mechanismen

Die Ausprägung der atopischen Dermatitis beruht auf einem komplexen Pathogenesemechanismus, der in der Humanmedizin bei der Atopie des Menschen intensiv erforscht wird. Es liegt die Vermutung nahe, dass sich die Pathogenese der AD und der CAD ähnelt (De WECK 1997; OLIVRY 1997). Die Immunopathogenese der AD ist noch umstritten (CHALMERS u. MEDLEAU, 1994). Eine führende Hypothese ist die Dysregulation der humoralen und zellulären Immunantwort mit einer Dominanz der TH2-Lymphozyten und eine



Imbalance der Cytokine, die zu einer gesteigerten IgE-Bildung führt (ROMAGNANI et al. 1997).

Die auslösenden Umweltallergene gelangen nicht nur auf dem Inhalationsweg in den Körper, sondern auch durch Hautkontakt und/oder durch den Gastrointestinaltrakt (HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998). Die Antigenpräsentation in der Haut erfolgt in der Epidermis durch Langerhanszellen und in der Dermis durch dendritische antigenpräsentierende Zellen (APZ), die, wie beim Menschen mit AD, auch in der atopischen Haut des Hundes vermehrt vorhanden sind (OLIVRY 1996). Die APZ induzieren in der Sensibilisierungsphase über die Freisetzung von Interleukinen die T-Helfer-Lymphozyten (TH2; HÄMMERLING und LEIDINGER 1998). Die daraufhin von den TH2 sezernierten Interleukine IL-4, IL-5, IL-6 und IL-13 unterstützen die humorale Zellantwort und damit die IgE-Produktion, was charakteristisch für atopische Erkrankungen ist, während die von den TH1 produzierten Cytokine, wie Interferon(IFN) $\gamma$ , IL-2, IL-12 und TNF $\alpha$ , die zelluläre Immunantwort fördern (ROMAGNANI et al. 1997). Von den Interleukinen wird dem IL-4 und dem IL-5 die größere Bedeutung in der Pathogenese der Atopie beigemessen. Unter dem Einfluss des IL-4 kommt es zur Anregung der B-Lymphozyten und zu einem Isotypenwechsel von IgM zu IgE, durch das die örtlichen Mastzellen sensibilisiert werden. Der wiederholte Allergenkontakt führt dann durch eine Kreuzvernetzung des gebundenen IgE zur Degranulation der vorgefertigten Mediatoren (u.a. Serotonin, Heparin und Histamin) und zur Sekretion von neu gebildeten Cytokinen, wobei IL-4, IL-5 und IL-6 wiederum die IgE-Produktion anregen (OLIVRY 1995, HÄMMERLING und LEIDINGER 1998).

Obgleich das IgE eine wichtige Rolle im Rahmen des allergischen Asthmas und der Rhinitis beim Menschen spielt, ist seine pathogenetische Rolle bei der AD weniger klar. Es gibt viele Studien, in denen Allergologen und Immunologen Beweise für eine solche Rolle aufgestellt haben, während dermatologische Untersuchungen die Bedeutung des IgE für die AD in Frage stellen (HALLIWELL u. De BOER 2001). Gegner der Rolle des IgE in der Pathogenese der CAD betonen, dass viele klinisch normale Hunde im intradermalen Test positive Reaktionen auf Umweltallergene und auch einen positiven in-vitro-Test des IgE aufweisen, was besonders bei den Reaktionen auf Hausstaub der Fall ist (JACKSON et al. 1996, LIAN u. HALLIWELL 1998). HALLIWELL et al. (1998) kamen zu dem Schluss, dass, sollte das IgE eine Rolle bei der Pathogenese der Atopie spielen, diese Erscheinungen nur zu erklären sind, wenn das IgE heterogen ist oder Unterschiede in der Freisetzung der Mastzell-Mediatoren bei atopischen und normalen Hunden zu finden sind. Beim Menschen wurden Studien durchgeführt, die für eine funktionelle Heterogenität des IgE sprechen, was sich in seiner Fähigkeit ausdrückt, das Histamin durch Interaktion mit einem Histamin-Releasing-Faktor freizusetzen (MacDONALD et al. 1995).

HILL et al. (1995) untersuchten die Konzentration des IgE im Serum atopischer, gesunder und mit Parasiten befallener Hunde und stellten dabei keinen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen fest.

WOLLENBERG und BIEBER (2000) beschrieben, dass 20 % der atopischen Patienten humanmedizinischer Studien keinen erhöhten Serum-IgE-Gehalt aufwiesen. Sie vermuten bei dieser „intrinsischen“ Form der AD einen anderen Pathogenesemechanismus als bei der klassischen oder „extrinsischen“ Form der AD, bei welcher erhöhte Serum-IgE-Gehalte ermittelbar sind.

Auch die Bedeutung von IgG in der Pathogenese der Atopie wurde in verschiedenen Arbeiten untersucht (HALLIWELL u. DeBOER 2001). WILLEMSE et al (1985a) äußerten in ihrer Arbeit über die Entdeckung von non-IgE-Antikörpern bei gesunden Hunden zuerst die Vermutung einer möglichen Beteiligung von IgG. In weiteren Studien wurden die Gehalte von Allergen-spezifischem IgG bei atopischen Hunden mit einem positiven intradermalen Test und im Serum von Hunden mit klinischen Anzeichen einer CAD, aber negativem Intrakutantest untersucht. In beiden Gruppen fand man häufig positive Resultate. Im Gegensatz dazu wurde in einer Kontrollgruppe von 15 gesunden Hunden kein spezifisches IgG festgestellt (WILLEMSE et al. 1985b). Die Möglichkeit, dass IgG in die Pathogenese der CAD mit einbezogen ist, wurde auch von LIAN und HALLIWELL (1998) angesprochen. Die Autoren kamen in ihrer Untersuchung zu dem Schluss, dass die Bestimmung von allergenspezifischen IgE für die Diagnostik der CAD von größerer Bedeutung ist als die des IgG. Bemerkenswert fanden die Untersucher, dass im Fall von Dermatophagoides pteronyssinus der Allergen-spezifische Gehalt des IgG bei normalen Hunden höher war als bei atopischen Hunden. Sie argumentierten deshalb, dass das IgG möglicherweise eher eine protektive Rolle spielt.

Gründe, die gegen eine Rolle des IgG in der Pathogenese sprechen, kommen dagegen von SAINTE-LAUDY und PROST (1996). Mit intradermalen Injektionen von Anti-IgG konnten die Autoren im Gegensatz zu Injektion von Anti-IgE keine typischen anaphylaktischen Reaktionen in der Haut auslösen (Umkehrung der anaphylaktischen Hautreaktion). Auch bei der Inkubation des Serums von atopischen Hunden mit humanen basophilen Granulozyten war, im Gegensatz zum IgE, keine Histaminausschüttung mit IgG auszulösen.

Eine große Anzahl von Allergenen sind an der Pathogenese der CAD beteiligt (HILL u. DeBOER 2001). Dies sind z.B. Milbenantigene, Hausstaub, Pollen von Gräsern, Bäumen und Kräutern, epidermale Antigene, Pilzsporen, Antigene von Insekten und verschiedene andere Antigene, wie z.B. Baumwolle. Es ist nicht möglich, eine Liste von mehr und weniger bedeutenden Antigenen anzufertigen. Als Ursache hierfür wurde von den Autoren angeführt, dass bei der Diagnostik keine einheitlichen Extrakte und Techniken angewendet wurden und das Auftreten von falsch-negativen und falsch-positiven Ergebnissen erschwerend wirkte (siehe Kapitel 4.1). In Tabelle 2.1 sind Beispiele für die unterschiedlichen Ergebnisse einzelner Autoren in der Reaktion auf verschiedene Allergene beim Hund dargestellt.

Tab. 2.1: Prozentuale Verteilung der positiven Reaktionen auf verschiedenen Allergene im Intrakutantest bei Hunden mit CAD in unterschiedlichen Studien

Allergen	Studie							
	a	b	c	d	e	f	g	h
Gräserpollenmischung	3	2	7	35	21		50	85
Birke/Hasel	2	1				10		
Beifuß	3	2						
Baumpollenmischung				53	12		40	78
Kräutermischung				45	13		53	
<i>Dermatophagoides farinae</i>	44	30	19			42		
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i>	17	6,6			3	19		
<i>Acarus siro</i>	36	21	19			26		
<i>Tyrophagus</i>	27	27	23			36		
<i>Aspergillus</i>	2	2						
<i>Alternaria</i>	1	27						
Schimmelpilze				60	4		50	
Hausstaub			59	47	40	29	63	71
Hausstaubmilbe			14	71				
Heumilbe			27					
Epithelien Katze			45		30	10		67

(a) HÄMMERLING u. DE WECK, Test GREER, Deutschland (1998); (b) HÄMMERLING u. De WECK, Test imovet bg, Deutschland (1998); (c) KOCH u. PETERS, Test Artuvetrin, Deutschland (1994); (d) ZUR et al., Test GREER, Israel (2001); (e) WILLEMSE u. VAN DEN BROM, Test Veterinhal, Niederlande (1983); (f) STURE et al., Test GREER+Veterinhal+Artuvetrin, Großbritannien (1995); (g) DeBOER, verschiedene Tests und verschiedene ausführende Personen, USA (1989); (h) NESBITT, keine Angaben zum Test, USA (1978)

HÄMMERLING und DE WECK (1998) stellten fest, dass atopische Hunde am häufigsten auf Milbenantigene reagieren. Sie führten als Ursache an, dass sich die Lebensweise der Hunde in den letzten Jahren immer mehr der des Menschen angepasst hat, was sich in zunehmender Wohnungshaltung zeigt. Auch eine oft schon frühe Zufütterung der Welpen mit Trockenfutter wurde als Ursache für das häufige Auftreten positiver Reaktionen auf Vorratsmilben genannt. Gleichzeitig waren in dieser Studie verschiedene Pollen sehr gering an der Auslösung atopischer Erkrankungen in der untersuchten Region beteiligt. Diese Aussage deckt sich mit der anderer Untersucher in Europa (VOLLSET et al. 1985, HAMANN et al. 1996).

Es gibt zwei verschiedene Hypothesen, auf welchem Weg die auslösenden Allergene in den Körper gelangen (OLIVRY u. HILL 2001a). Nach der ersteren werden die Allergene eingeatmet und gelangen über den Blutkreislauf zur Haut, wo sie an die Mastzellen der Haut gebunden werden. Eine frühe Veröffentlichung beschreibt, dass inhalierte Allergene die Auslöser von Juckreiz und Hautläsionen sein könnten (WITTICH 1941). PETERS et al.

(1982) berichten von einer antigen-spezifischen, dosisabhängigen Histaminabgabe der Leukozyten nach einer Zerstäubung von Ascarisallergen bei Basenji-Greyhounds, die gegen dieses sensibilisiert worden waren.

Nach der zweiten Hypothese kontaktieren die Allergene direkt durch das Stratum corneum die APZ der Epidermis und lösen so die Entzündungsreaktionen aus. OLIVRY et al. (1996) fanden eine größere Anzahl von antigenpräsentierenden Langerhanszellen in der Haut von Hunden mit klinisch-manifester CAD, im Vergleich zu serologisch positiv getesteten Hunden ohne Hautirritationen oder zur Kontrollgruppe gesunder Hunde. Weiterhin wiesen die Langerhanszellen bei Hunden mit klinischer Manifestation membrangebundenes IgE auf. Die Autoren sehen hier den indirekten Nachweis für einen transepidermalen Weg der Allergen-Präsentation. OLIVRY und HILL (2001a) stellten fest, dass es zur Zeit keinen Beweis für eine der Hypothesen gibt. Sie sind allerdings der Meinung, dass bei kritischer Betrachtung der veröffentlichten Studien eine epidermale Allergenpräsentation plausibler erscheint.

### 2.1.3 Klinik und Diagnostik

Die klinischen Anzeichen einer CAD wurden erstmals 1941 in Form von saisonaler Rhinitis, Konjunktivitis und Urtikaria (WITTICH 1941) beschrieben.

Als primäres Anzeichen einer CAD wird das Vorhandensein von Juckreiz gesehen, was sich häufig in Lecken und Beißen der Pfoten, Scheuern des Gesichtes an Gegenständen oder Juckreiz in den Achseln äußert (NESBITT 1978; WILLEMSE 1986). Begleitet wird der Juckreiz von akuten und chronischen Veränderungen der Haut. Akute Veränderungen stellen sich in Form von Rötung und Ödematisierung dar. Charakteristische chronische Veränderungen sind Alopezie, Krusten, Schuppen, Hyperpigmentation und Lichenifikation. Letztere sind sekundär und durch die mechanische Irritation der Haut bedingt (WILLEMSE 1986).



Abb. 2.1:  
Atopische Dermatitis; Sharpej mit den an typischen, häufig betroffenen Körperregionen auftretenden Erythemen, krustösen Veränderungen und Alopezie (WILKINSON u. HARVEY 1999)



Abb. 2.2:  
Atopische Dermatitis; Pododermatitis bei einem West Highland White Terrier

WILLEMSE (1986) gibt folgende prozentuale Anteile für die betroffenen Körperregionen an:

Pfoten, Gesicht	60 – 70 %
Achseln	35 %
Leisten	20 %
Ohren (Otitis)	17 %
Abdomen	15 %

WILLEMSE und VAN DEN BROM (1983) fanden bei bis zu 30 % und SCOTT (1981) bei 50 Prozent der von ihnen untersuchten Hunde außerdem eine Konjunktivitis. Weiterhin erwähnen GRIFFIN und DeBOER (2001), dass es häufig zur sekundären, bakteriellen Besiedlung (Pyodermie) der betroffenen Stellen kommt. WILLEMSE und VAN DEN BROM (1983) beobachteten bei 31 % der Hunde eine sekundäre Pyodermie.

Bei 75 % der an Atopie erkrankten Hunde treten die ersten Symptome im Alter von sechs Monaten bis drei Jahren auf (NESBITT 1978, SCOTT 1981, WILLEMSE u. VAN DEN BROM 1983). Ein Auftreten der CAD bis zu einem Alter von sechs Monaten wurde bisher nicht beobachtet.

Für die Diagnosestellung der CAD ist neben der Anamnese und der klinischen Untersuchung das Ausschließen anderer Erkrankungen, wie der Demodikose, der Räude, des Flohbefalls, der Futtermittelallergie, der Kontaktdermatitis und der ideopathischen Pododermatitis notwendig. Erst wenn die dazu notwendigen Untersuchungen ein negatives Ergebnis liefern, ist die Durchführung eines Allergietests indiziert (WILLEMSE 1986, KOCH u. PETERS 1994, CHALMERS u. MEDLEAU 1994, HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998).

Die Allergietests sollten in erster Linie dazu verwendet werden, die klinische Diagnose Atopie zu bestätigen und die spezifischen allergenen Substanzen zu ermitteln. Die Bedeutung des Wissens um die Allergene liegt in der möglichen Allergenvermeidung und Durchführung einer Hyposensibilisierung. Zur Bestimmung der allergenen Substanzen stehen der in vitro- bzw. IgE-Test und der in vivo- bzw. Intrakutantest zur Verfügung (CHALMERS u. MEDLEAU 1994). Beide Tests haben Vor- und Nachteile. Welcher der effizientere ist, ist noch nicht geklärt. Der Intrakutantest wurde lange Zeit als das Diagnostikum der Wahl eingestuft, besonders, weil die allergischen Reaktionen mit dem Injizieren der Allergene auf biologischem Wege nachempfunden werden können. Die in der Humanmedizin angewendeten „prick“- oder „patch“-Tests scheinen hierfür möglicherweise noch besser geeignet zu sein, da die Hautirritation bei diesen Tests wesentlich geringer ausfällt, als bei der intrakutanen Injektion. Allerdings wirkt das Glycerin in den Allergenlösungen dieser Tests bei der Diagnostik am Hund störend (HÄMMERLING et al. 1994). Eine lange Wartezeit (48h) bis zur möglichen Auswertung des patch-Tests erweist sich ebenfalls als ungünstig. Die Beurteilung ist immer eine subjektive Einschätzung und setzt große Erfahrung voraus (HÄMMERLING u. LEIDINGER, 1998). Oft zeigen auch die Allergene verschiedener Hersteller unterschiedliche Hautreaktionen (HÄMMERLING 1994).

Es gibt drei verschiedene handelsübliche in-vitro-Tests: einen Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay (ELISA), einen Enzyme-Immunoassay (EIA) und den Radio-Allergo-Sorbent-Test (RAST), wobei der ELISA die höhere Empfindlichkeit besitzt (CHALMERS u. MEDLEAU 1994).

In einer Studie von DeBOER et al. (1993) wird die Herstellung monoklonaler Antikörper gegen IgE und IgG beschrieben. Die Anwendung monoklonaler Anti-IgE-Antikörper soll eine Verbesserung gegenüber polyklonalen Antikörpern darstellen, welche neben dem IgE auch mit dem in wesentlich größeren Mengen vorkommenden IgG reagieren (BOND et al. 1994). Die Vermutung liegt jedoch nahe, dass ein einzelner monoklonaler IgE-Antikörper in der Auffindung verschiedener Epitope nicht ausreicht und eine Mischung mit mehreren monoklonalen anti-IgE-Antikörpern eine höhere Sensitivität besitzt (De WECK et al. 1998). Wünschenswert in der Allergiediagnostik wären laut HÄMMERLING und LEIDINGER (1998) übereinstimmende Ergebnisse zwischen Anamnese, Hauttestung und in-vitro-Tests. Wichtig ist hierfür auch die Bereitstellung von gereinigten und standardisierten Allergenextrakten. Untersuchungen auf Major-Allergene bei Hunden und die Zusammensetzung der Allergenfraktionen in Form von Einzelpeptiden der Allergene sollen bessere Testergebnisse und auch bessere Erfolge in der spezifischen Immunotherapie ergeben.

#### 2.1.4            Therapeutische Maßnahmen

##### 2.1.4.1            Vermeidung von Allergenen und Allergenkontakten

Obwohl noch keine Studien zur Remission von klinischen Anzeichen nach Verhinderung von Allergenkontakt existieren, sollte der erste Schritt bei der Behandlung in der Vermeidung von Allergenkontakten bestehen (OLIVRY u. SOUSA 2001). Solche Maßnahmen sind z.B. die Anwendung von Akariziden, Wachstumsregulatoren für Arthropoden, das Vermeiden von Graskontakt beim Spaziergang oder das Waschen nach einem solchen.

Da an CAD erkrankte Hunde möglicherweise prädisponiert sind, eine Überempfindlichkeit gegenüber Flohspeichel zu entwickeln, erweist es sich außerdem als sinnvoll, eine Flohbehandlung in das Management dieser Erkrankung mit einzubeziehen, um eine Flohstichallergie auszuschließen (OLIVRY u. SOUSA 2001).

Viele Studien und klinische Modelle zeigen auf, dass die Erscheinungen der CAD mit Futtermitteln in Zusammenhang stehen können. Die eigentliche Beziehung zwischen Futtermittelreaktionen und der CAD ist unklar (HILLIER u. GRIFFIN 2001). Geht man von einem solchen Zusammenhang aus, wäre auch das Abklingen oder die Linderung der Symptome bei einigen Atopikern durch die Anwendung einer Eliminationsdiät erklärbar (OLIVRY u. SOUSA 2001).

##### 2.1.4.2            Pharmakotherapie

###### 2.1.4.2.1            Behandlung mit Glucocorticoiden

Die hauptsächlich entzündungshemmenden Effekte der Glucocorticoide (Glc) beruhen auf einer Unterdrückung von an der Entzündungsreaktion beteiligten Genen, was eine Verringerung der Aktivierung von wichtigen Zellen des Immunsystems (Lymphozyten, Makrophagen, Granulozyten und Mastzellen) zur Folge hat. Die Glucocorticoidbindung an bestimmte Transkriptionsfaktoren führt z.B. zur Unterdrückung der Expression von

Cytokinen, Cytokinrezeptoren, chemotaktischen Proteinen, proinflammatorischen Enzymen und Adhäsionsmolekülen (BARNES 1998, De BOSSCHER et al. 2000). So wird durch Glucocorticoide auch die Produktion der von den T-Zellen freigesetzten Cytokine, vor allem von IFN $\gamma$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 und IL-13 vermindert (BARNES 1998). Weiterhin wird durch die Glc die Expression von Lipocortin gesteigert, das die zytosolische Phospholipase A2 und damit die Freisetzung der für die Bildung von Entzündungsmediatoren benötigten Arachidonsäure aus den Phospholipiden hemmt. Die Glucocorticoidbehandlung ist die am meisten genutzte anti-inflammatorische Therapie der CAD und stellt oft das Mittel der Wahl bei der Behandlung dieser Erkrankung dar (OLIVRY u. SOUSA 2001).

DeBOER et al. (2002) untersuchten die lokale Wirkung des Glc Triamcinolon in Form einer 0,015-%igen Triamcinolon-Aceton-Lösung bei 52 Atopikern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe von 51 Hunden, die mit einem Placebo behandelt wurden. Das Ergebnis zeigte eine signifikante Besserung bei den Atopikern im Vergleich zur Kontrolle. Bei 69 % der Patienten stellte sich eine Besserung von > 50 % ein. Bei drei Hunden beobachteten die Untersucher Nebenwirkungen in Form von Polyurie, Polydipsie, Polyphagie oder gastrointestinalen Symptomen. Um das Auftreten solcher Nebenwirkungen zu verhindern sollten hohe Dosen topischer Glc nur über einen kurzen Zeitraum angewendet werden. Geringer dosierte Glc können längere Zeit zur Anwendung kommen. Für eine Senkung des Risikos steroidinduzierter Hautatrophien wird in einer humanmedizinischen Studie eine intermittierende Anwendung empfohlen (LEUNG et al. 1997). GROSS et al. (1997) stellten bei längerer Anwendung eine starke Hautatrophie, sowie eine subepidermale Vesikelbildung fest.

Über die Wirksamkeit oraler Glc im Vergleich zu anderen Behandlungsmethoden wurden viele Studien durchgeführt (OLIVRY u. MÜLLER 2003). OLIVRY et al. (2002) und STEFFAN et al. (2003) verglichen die Wirksamkeit von Cyclosporin (Calcineurininhibitor, siehe 2.1.4.2.2) mit der von Prednisolon bzw. Methylprednisolon. Die Untersucher konnten in der mit Prednisolon behandelten Gruppe atopischer Hunde einen 45- bis 83-%igen Rückgang der sekundären Läsionen und einen 33- bis 81-%igen Rückgang des Juckreizes verzeichnen. Die Wirksamkeit des Methylprednisolons stellte sich als weniger effektiv heraus (STEFFAN et al. 2003).

SCOTT et al. (1995) empfehlen eine initiale Behandlung von 1 mg/kg Körpermasse (KM) Prednison oder Prednisolon oral einmal täglich für fünf bis zehn Tage. Danach sollte die Dosis möglichst gesenkt (0,25 - 0,5 mg/kg KM) und alle zwei Tage verabreicht werden.

Die Nebenwirkungen bei der systemischen Gabe von Cortisonpräparaten zeigen sich in Polyurie, Polyphagie, Polydipsie, Alopezie und Stammfettsucht, was dem klinischen Bild des Hyperadrenocortizismus ähnelt. Weiterhin können auch Pankreatitiden, Magenulcera und eine erhöhte Anfälligkeit für mikrobielle Infektionen gefunden werden (BEHREND u. KEMPPANEN 1997).

#### 2.1.4.2.2 Behandlung mit Calcineurininhibitoren

Cyclosporin A (CsA) ist ein Polypeptid, dass aus dem Pilz *Tolypocladium inflatum* isoliert wird. CsA ist dazu befähigt, die Mediatorenfreisetzung einiger Zellen (Mastzellen, Granulozyten, T-Lymphozyten und Langerhanszellen), die in die cutane Entzündungsreaktion einbezogen sind, zu hemmen (GUAGUERE 2004).

OLIVRY et al. (2002) fanden bei der Anwendung von CsA eine vergleichbare Effektivität wie bei der Gabe des synthetischen Glc Prednisolon. Bei einer systemischen, oralen Anwendung von 5 mg/kg KG CsA je Tag wurde durch STEFFAN et al. (2003) eine Reduktion der klinischen Symptome über 50 % bei 40 – 66 % der untersuchten atopischen Hunde ermittelt. Hinsichtlich der Toxizität zeigt CsA im Vergleich zu anderen Immunsuppressiva keinerlei myelotoxische, teratogene, mutagene oder karzinogene Wirkungen. Die Ursache hierfür liegt darin, dass die Immunsuppression nicht über zytotoxische Effekte, sondern über eine Beeinflussung der Reaktion der T-Lymphozyten herbeigeführt wird. Hunde, die mit einer Dosis von 45 mg/kg KG/Tag über ein Jahr behandelt wurden, zeigten Nebenwirkungen wie Papillomatose, Gingivitis, Malnutrition und Dysproteinämie, die sich nach 12 behandlungsfreien Wochen von selbst zurückbildeten. Die empfohlene maximale Dosis für eine Dauerbehandlung liegt bei 15 mg/kg/Tag (RYFFEL et al. 1983).

Eine weitere Möglichkeit der Behandlung mit Calcineurininhibitoren ist die lokale Anwendung auf der erkrankten Haut. MARSELLA und NICKLIN (2002) untersuchten die Wirkung der topischen Behandlung mit einer Tacrolimus-Lotion. Tacrolimus ist ein Immunsuppressivum, das von dem Pilz *Streptomyces tsukubaensis* isoliert wurde. Nach einmal täglicher Anwendung über vier Wochen stellten sie bei 38 % der Hunde eine Besserung von Juckreiz und Sekundärläsionen der Haut von über 50 % fest. Über Nebenwirkungen dieser Anwendungsform wurde von den Autoren nichts berichtet.

#### 2.1.4.2.3 Behandlung mit Typ-1-Histaminrezeptor-Antagonisten

Die Behandlung mit Antihistaminika ist weltweit die am häufigsten angewendete Medikation beim Menschen und beruht auf dem antagonistischen Effekt auf H1-Histaminrezeptoren, infolge dessen es zu einer Hemmung der Freisetzung von Entzündungsmediatoren der Mastzellen und basophilen Granulozyten kommt (LIPPERT et al. 1995, DeBOER u. GRIFFIN 2001).

PATTERSON (1994, 1995) ermittelte in seinen Studien bei der Anwendung von Chlorpheniramin, Clemastin, Hydroxyzin und Promethazin eine Reduktion des Pruritus bei atopischen Hunden von maximal 10 %, wobei er die besten Ergebnisse in der Kombination der Antihistaminika mit der zusätzlichen Gabe von essentiellen Fettsäuren (EFAs) erreichte. Als Nebenwirkung wurde von dem Autor Schläfrigkeit beschrieben, die bei Clemastin am geringsten und bei Chlorpheniramin am stärksten auftrat (13 % der Hunde). In einer weiteren Studie wurde Ceterizin, ein Antihistaminikum der zweiten Generation, in einer Dosierung von 1 mg/kg Körpergewicht einmal täglich über zwei Wochen angewendet. Vier der 20 Hunde dieser Studie zeigten eine Reduktion des Pruritus zwischen 26 und 100 % (COOK et al. 2004).



#### 2.1.4.2.4 Weitere Anwendungen der Pharmakotherapie

Die Wirksamkeit des Phosphodiesterasehemmers Pentoxifyllin untersuchten MARSELLA und NICKLIN (2000) in einer Studie mit zehn atopischen Hunden. Sie bildeten zwei Gruppen von je fünf Hunden, von denen erstere zweimal täglich 10 mg/kg KG Pentoxifyllin über vier Wochen bekam. Die zweite Gruppe bekam über denselben Zeitraum ein Placebo verabreicht. Eine Reduktion des Pruritus > 50 % wurde bei drei der fünf mit Pentoxifyllin behandelten Hunde erzielt. In der Kontrollgruppe war die Symptomatik unverändert.

Die Behandlung mit Leukotrieninhibitoren wurde von SENTER et al. (2002) und CROW et al. (2001) getestet. CROW et al. (2001) erreichten mit Zileuton eine bis zu 50-%ige Reduktion der Symptome bei drei von neun Hunden und SENTER et al. (2002) mit Zafirkulast eine 26- bis 50-%ige Reduktion der Krankheitserscheinungen bei vier von 18 Hunden. Zwei der mit Zafirkulast behandelten Hunde zeigten als Nebenwirkung Erbrechen.

OLIVRY et al. (2003) setzten das Prostaglandinanalogen (PGE1-Analogen) Misoprostol in einer Dosis von 4,4 µg/kg Körpergewicht ein und erreichten eine signifikante Besserung der Symptomatik im Vergleich zu einer Kontrollgruppe.

Die Wirkung von alternativen Behandlungsmöglichkeiten beim Hund mit CAD testeten NAGLE et al. (2001) mit dem chinesischen Pflanzenprodukt P07P und SCOTT et al. (2002) mit einer kommerziellen homöopathischen Mischung. NAGLE et al. (2001) erreichten mit P07P eine Besserung zwischen vier und 25 % der Symptomatik, wobei die Besitzer der Hunde keine Besserung des Pruritus verzeichneten. Nur einer von achtzehn Hunden der Studie von SCOTT et al. (2002) zeigte bei der Behandlung mit der homöopathischen Mischung (Skin and Seborrhea Remedy; HomeoPet) eine 25- bis 50-%ige Besserung der klinischen Symptome.

#### 2.1.4.3 Allergenspezifische Immunotherapie

Die Allergenspezifische Immunotherapie (ASIT) beinhaltet das Verabreichen graduell ansteigender Mengen eines Allergenextraktes an einen Allergiker zur Verminderung der Symptome, die entstehen, wenn es zu einem Kontakt mit diesem ursächlichen Allergen kommt (WHO-Definition – BOUSQUET et al. 1998).

Die ASIT wird schon seit Jahren zur Behandlung von Menschen und Hunden, die an AD bzw. CAD erkrankt sind, angewandt (GRIFFIN u. HILLIER 2001).

Eine hohe Allergenbelastung durch die ASIT führte bei Patienten, die eine hohe Affinität zu diesem Allergen haben, zu einer höheren Sensitivität des MHC-II-Komplexes für die antigenpräsentierenden Zellen und zu einer stärkeren T-Zell-Aktivierung. Es kam dadurch zur IFN $\gamma$ -Produktion und Unterdrückung der IgE-Sekretion (AKDIS u. BLASER 2000).

Der Wirkmechanismus der ASIT beim Hund ist gegenwärtig unbekannt (GRIFFIN u. HILLIER 2001). HITES und KLEINBECK (1989) berichteten jedoch ebenfalls von einem signifikanten Anstieg des allergenspezifischen IgG-Gehaltes bei Hunden nach einer sechsmonatigen Immunotherapie.

Die Verabreichung des Allergenextrakts erfolgt standardgemäß subkutan (GRIFFIN u. HILLIER 2001). Gute Behandlungserfolge wurden bei der Durchführung der ASIT unter Verwendung von nicht mehr als zehn bis 12 Antigenen erreicht (REEDY et al. 1997, SCOTT et al. 2001). NUTALL et al. (1998) fanden bei ihrer Untersuchung keine Beziehung zwischen der Anzahl der verwendeten Allergene und dem Erfolg der ASIT. Sie stellten weiterhin keinen Einfluss von Geschlecht und Rasse fest. Eine signifikant schlechtere Erfolgsrate fanden sie bei Hunden, deren Behandlung erst fünf Jahre oder länger nach dem Einsetzen der Symptome der CAD begonnen wurde. Über den Einfluss des Alters an sich auf den Erfolg der Behandlung wurde jedoch keine Aussage getroffen.

Zur Anwendung kommen drei Basistypen der Antigenbereitstellung für die ASIT: Wässrige Extrakte, Aluminiumpräzipitate und Emulsionen. Die Anwendung von Emulsionen ist jedoch beschränkt; zwar sind hier durch die Injektion von subkutanen oder intramuskulären Allergendepots längere Behandlungsintervalle möglich, aber es besteht eine größere Gefahr der anaphylaktischen Reaktion oder Abszessbildung nach der Applikation (BAKER 1969). Die Dosierung der Allergene variierte in den einzelnen Studien. Die Enddosis lag bei 5000 – 20000 PNU (Protein-Stickstoff-Einheiten) (NUTALL et al. 1998, PARK et al. 2000, MUELLER u. BETTERNAY 2001).

Eine Besserung (50 %) der Symptomatik wurde bei 50 – 100 % der behandelten Hunde nach vier Monaten erreicht (HALLIWELL u. SCHWARTZMANN 1971, NESBITT 1978, NUTALL et al. 1998, PARK et al. 2000).

## **2.2 Fettsäuren und ihre Bedeutung für Stoffwechsel und Therapie**

### **2.2.1 Biochemie der Fettsäuren**

Als Bestandteile von Zellmembranen sind langkettige, meist unverzweigte gesättigte oder ungesättigte Monocarbonsäuren für den Säugetierorganismus wichtig. Die gerade Zahl der C-Atome erklärt sich aus der Biosynthese aus C<sub>2</sub>-Einheiten, die durch den Multienzymkomplex „Fettsäure-Synthase“ erfolgt.

Es gibt drei Hauptfamilien der ungesättigten Fettsäuren (UFA): die n-9, die n-6 und die n-3 UFA. Nach der n-Nomenklatur werden die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) nach der Position der Doppelbindung, die dem Methylende des Fettsäuremolekül am nächsten ist, definiert (siehe Abb. 2.3).

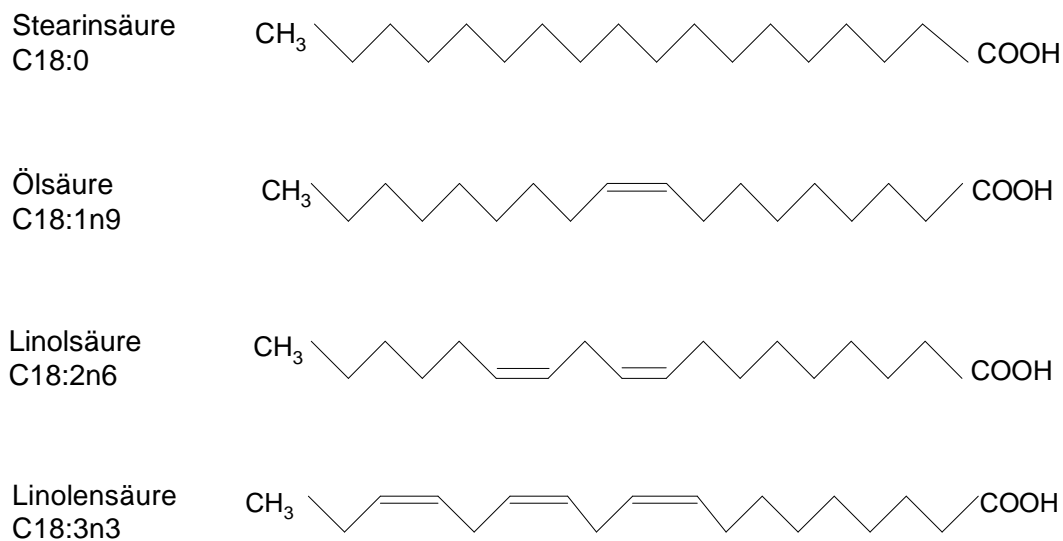


Abb. 2.3: Beispiele für die Struktur der gesättigten, einfach-ungesättigten (n-9) und mehrfach-ungesättigten (n-6 und n-3) Fettsäuren

Die Fettsäuren Linolsäure (LA, C18:2n6) und  $\alpha$ -Linolensäure (ALA, C18:3n3) sind die Vorstufen für die Biosynthese der langkettigen PUFAs der n6- und n3-Familie. Der Stoffwechsel der Fettsäuren erfolgt in den meisten Geweben durch  $\Delta$ 6- und  $\Delta$ 5-Desaturase, Elongation sowie  $\beta$ -Oxidation (siehe Abb. 2.4). Das Enzym  $\Delta$ 6-Desaturase katalysiert die Umwandlung der LA zur Gammalinolensäure (GLA, C18:3n6) und die  $\Delta$ 5-Desaturase bewirkt die Umwandlung der Dihomogammalinolensäure (DGLA, C20:3n6) zur Arachidonsäure (AA, C20:4n6). Durch eine Elongase kommt es zur enzymatischen Kettenverlängerung der GLA zur DGLA. Die drei oben genannten Enzyme sind ebenfalls für die Katalyse der einzelnen Schritte der n3- und n9- Fettsäuren verantwortlich. Es gibt Interaktionen zwischen den drei Fettsäurefamilien; so unterdrücken die n3-Fettsäuren den Metabolismus der n6- Fettsäuren und diese beiden Familien den der n9- Fettsäuren (ZIBOH u. MILLER 1990).

In einer frühen Studie wurde nachgewiesen, dass Säugetiere nicht in der Lage sind, LA und ALA selbst zu synthetisieren; sie sind dadurch essentielle Bestandteile der Nahrung. Diese Feststellung führte zur Begriffsbildung der essentiellen (EFA) und nichtessentiellen Fettsäuren (BURR u. BURR 1930). Als Quelle der n3- und n6- Fettsäuren dienen verschiedene Öle. Die weiteren Mitglieder der Fettsäurefamilien werden dann jeweils in vivo nach der Aufnahme der C18-Vorgänger synthetisiert oder können auch direkt über tierische Nahrung zugeführt werden. So findet man in Fischöl viel Eicosapentaensäure (EPA, C20:5n3) und Docosahexaensäure (DHA, C22:6n3). Die AA ist reichlich in Leber, Gehirn und Muskulatur von Säugetieren enthalten (ZIBOH u. MILLER 1990).

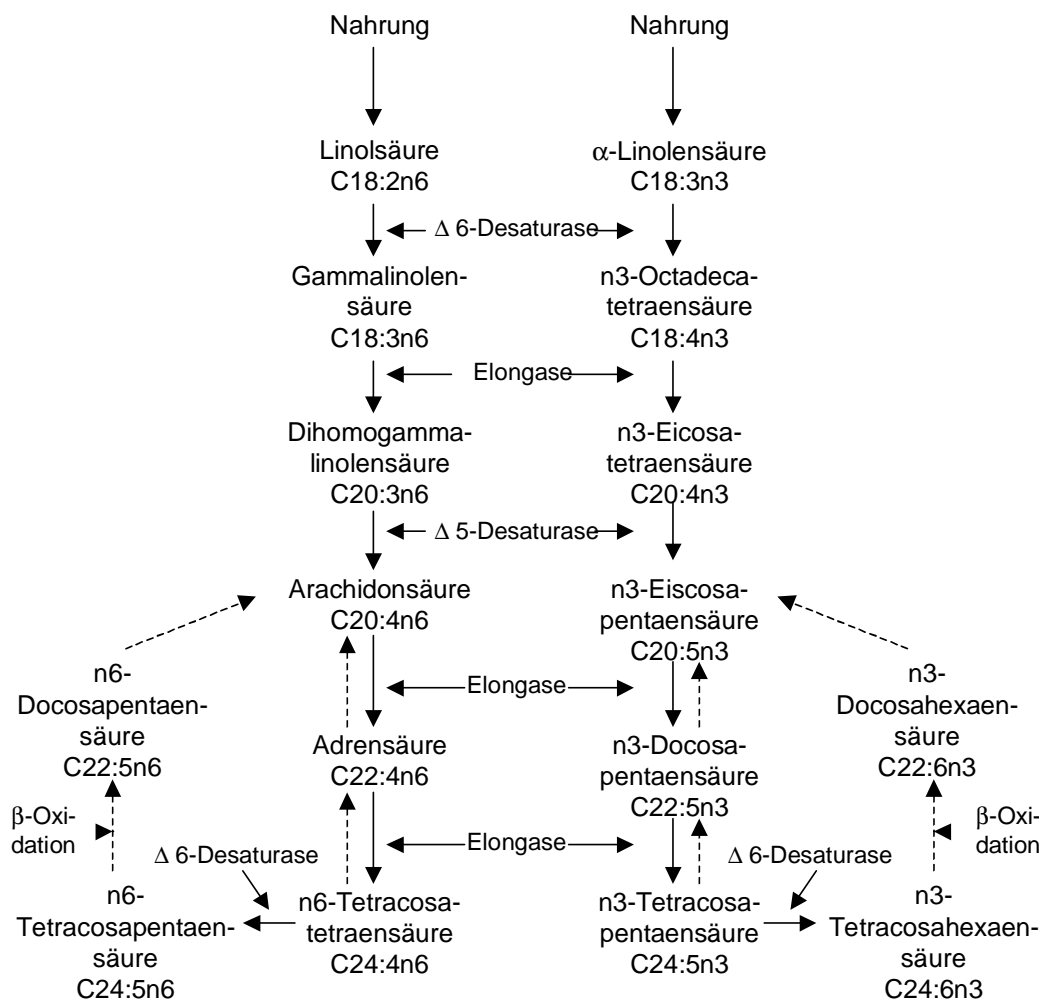


Abb. 2.4: Metabolismus der n3- und n6-Fettsäuren nach PEREIRA et al. (2003)

Die Haut ist nicht in der Lage, die Umwandlung z.B. der LA zur GLA bzw. der DGLA zur AA durchzuführen, da hier die Aktivität der  $\Delta 5$ - und  $\Delta 6$ -Desaturase fehlt, was bedeutet, dass die in den Phospholipiden der Haut vorhandene AA (C20:4n6) und weitere von diesen Enzymen gebildete Fettsäuren in anderen Organen endogen synthetisiert oder mit der Nahrung aufgenommen und zur Haut transportiert werden müssen (ZIBOH u. CHAPKIN 1988).

LA und ALA sowie ihre langkettigen Derivate sind bedeutende Bestandteile der Zellmembranen von Pflanzen und Tieren. Die Metabolite dieser zwei Fettsäurefamilien haben oft entgegengesetzte Wirkungen im Entzündungsgeschehen. Ein Umbau der n6- zu n3- Fettsäuren ist nicht möglich, da den Zellen der Säugetiere das dafür benötigte Konverting-Enzym, die omega-3-Desaturase, fehlt (SIMOPOULOS 2002).

Während die Proteinbestandteile der Zellmembranen genetisch bestimmt sind, zeigt die PUFA-Komposition eine diätetische Abhängigkeit (SIMOPOULOS 2002). Die Folge eines Mangels an EFAs zeigt sich bei Ratten in vermindertem Größenwachstum, schuppigen Hautveränderungen, erhöhter Wasserpermeabilität der Haut, Haarverlust, Schwanz-

nekrosen, Leberverfettung, Nierenschädigung, Reproduktionsunfähigkeit, fetaler Resorption, Hodendegeneration sowie dem Funktionsverlust von Zellmembranen (BURR und BURR 1930).

## 2.2.2 Bildung und Bedeutung von Lipidmediatoren für Entzündungsvorgänge

Eicosanoide spielen eine bedeutende Rolle in der Pathophysiologie entzündlicher Hauterkrankungen. Sie sind sehr kurzlebig und agieren an ihrem Bildungsort als Gewebsmediatoren (GIL 2002). Die Bildung der Eicosanoide erfolgt aus den Fettsäuren membranärer Phospholipide über drei verschiedene Enzyme: die Prostaglandin-H-Synthase (Bildung von Prostaglandinen und Thromboxanen; siehe Abb. 2.5), die Lipoxygenase (Bildung von Leukotrienen und Fettsäurehydroxiden; siehe Abb. 2.6) und die Epoxygenase (Bildung der Fettsäureepoxide) (SMITH 1989).

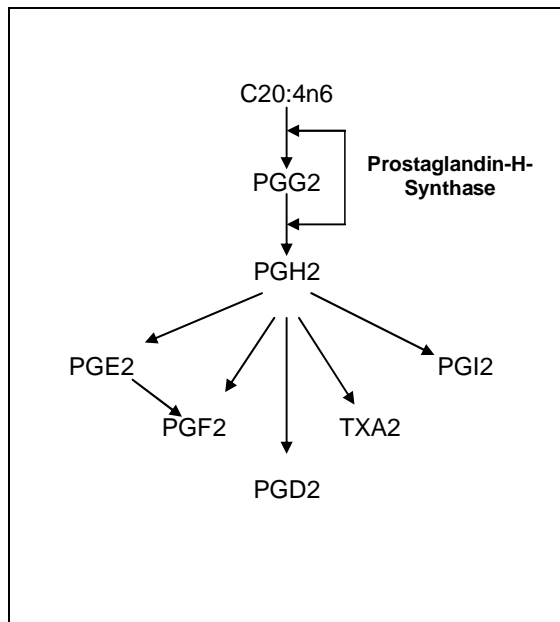


Abb. 2.5:  
Prostaglandin-H-Synthaseweg der Arachidonsäuremetabolisierung, modifiziert nach ZIBOH et al. 2000; PG = Prostaglandin, TX = Thromboxan

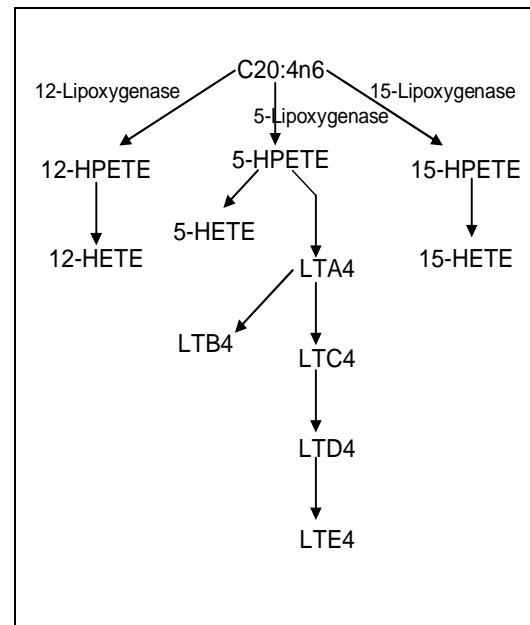


Abb. 2.6:  
Lipoxygenaseweg der Arachidonsäuremetabolisierung, modifiziert nach ZIBOH et al. 2000; HPETE = Hydroxyperoxyeicosatetraensäure, HETE = Hydroxyeicosatetraensäure, LT = Leukotrien

Für die Freisetzung der Fettsäuren aus den membranständigen Phospholipiden sind Phospholipasen verantwortlich. Die Freisetzung der AA erfolgt durch die zytosolische Phospholipase A2 $\alpha$ . Die AA bildet einen wichtigen Ausgangspunkt für die Synthese entzündungsfördernder Eicosanoide. Die Metabolite der AA (C20:4n6) regeln die Proliferation und die Entzündungsvorgänge in der Haut. Der Anteil der AA am Gesamtgehalt

der Fettsäuren der Phospholipide der Haut beträgt beim Mensch 9 % (ZIBOH et al. 1992). Beim Hund besitzt die AA einen Anteil von 14 % (TAUGBOL 1998).

Die Eicosapentaensäure (EPA, C20:5n3) und die Docosahexaensäure (DHA, C22:6n3) aus der n3-Fettsäurenfamilie sowie die DGLA aus der n6-Fettsäurenfamilie sind weitere bedeutende Fettsäuren für die Bildung von Eicosanoiden. Der Gehalt der EPA und der DHA in den Phospholipiden der Haut ist dagegen gering (GIL 2002). Nach Aussage von ZIBOH et al. (2000) sind die EPA und die DHA in gesunder Haut nicht vorhanden.

Tab. 2.2: Wichtige Lipidmediatoren und ihre Wirkung auf Entzündungsvorgänge (ZIBOH 1992, CALDER et al. 2002, GIL 2002, SIMOPOULOS 2002, STULNIG 2003)

Lipidmediator	Ausgangs- fettsäure	Wirkung
<i>Prostaglandine (PG)</i>		
PGD <sub>2</sub>	AA	fördert Vasodilatation und Ödembildung
PGE <sub>1</sub>	DGLA	wenig proinflammatorische Effekte
PGE <sub>2</sub>	AA	fördert Vasodilatation und Ödembildung, hemmt Lymphozytenproliferation und die Bildung von TH1-Zytokinen, hemmt 5-Lipoxygenase (LOX)
PGF <sub>2</sub>	AA	fördert Vasodilatation und Ödembildung
PGI <sub>2</sub>	AA	fördert Vasodilatation und hemmt die Plättchenaggregation
PGI <sub>3</sub>	EPA	fördert Vasodilatation und hemmt die Plättchenaggregation, geringere Wirksamkeit als PGI <sub>2</sub>
<i>Leukotriene (LT)</i>		
LTB <sub>4</sub>	AA	induziert Aggregation von neutrophilen Granulozyten
LTB <sub>4</sub> , LTE <sub>4</sub>	AA	verursacht Vasokonstriktion und ansteigende Gefäßpermeabilität
LTB <sub>5</sub>	EPA	10- bis 100-fach weniger aktiv als LTB <sub>4</sub> , blockiert LTB <sub>4</sub> -Rezeptor
LTB <sub>5</sub> , LTC <sub>5</sub> , LTD <sub>5</sub>	EPA	sehr schwache chemotaktische und vasokonstriktorische Wirkung
<i>Fettsäurenhydroxide</i>		
15-HEPE	EPA	Hemmung der 5-LOX mononukleärer Zellen, Limitierung der Synthese proinflammatorischer Mediatoren (LTB <sub>4</sub> , LTC <sub>4</sub> und LTD <sub>4</sub> )
15-HoDHE	DHA	gleiche Wirkung wie 15-HEPE
5-HETE	AA	zeigt chemotaktische Aktivität, induziert Aggregation von neutrophilen Granulozyten, kann in der Haut zu LTB <sub>4</sub> konvertiert werden
12-HETE	AA	induziert Chemotaxis von Neutrophilen

15-HETE	AA	hemmt 5-LOX von Makrophagen und polymorphkernigen Leukozyten, hemmt 12-LOX, Hemmung der Bildung von LTB <sub>4</sub> und 12-HETE und der LTB <sub>4</sub> vermittelten neutrophilen Chemotaxis, Stimulation von T-Suppressor-Zellen
15-HETrE	DGLA	hemmt 5- und 12-LOX sowie Proteinkinase C

Die n3- und n6-PUFAs und ihre Metabolite haben bedeutenden Einfluss auf den Entzündungsprozess. Dabei zeigen die Mediatoren der AA ausgeprägte entzündungsfördernde Eigenschaften, während die der DHA und EPA eher entzündungshemmende oder schwach entzündungsfördernde Effekte aufweisen. Im Gegensatz zu den anderen Produkten der AA hat das 15-Lipoxygenase-Produkt 15-HETE jedoch antiinflammatorische Eigenschaften (GIL 2002).

ZIBOH et al. (2000) verglichen die Wirksamkeit von 15-HETE (Oxidationsprodukt der AA), 15-HETrE (15-Hydroxyeicosatriensäure, Oxidationsprodukt der DGLA) und 15-HEPE (15-Hydroxyeicosapentaensäure, Oxidationsprodukt der EPA) auf die Biosynthese des LTB<sub>4</sub> durch polymorphkernige Zellen und fanden heraus, dass die 5-Lipoxygenase am stärksten durch 15-HETrE gehemmt wird. Die 15-HETE wies eine geringer hemmende Wirkung auf als die 15-HEPE und 15-HETrE.

LTB<sub>4</sub> ist einer der bedeutendsten Entzündungsmediatoren. Der Gehalt der 5-Lipoxygenase in Hautzellen ist sehr gering. Dies ist der Grund dafür, dass LTB<sub>4</sub> nicht direkt in der Haut synthetisiert werden kann. Es ist aber möglich, LTA<sub>4</sub>, das in polymorphkernigen Leukozyten gebildet wird, in der Haut enzymatisch zu LTB<sub>4</sub> umzubauen (GIL 2002).

Es ist bekannt, dass eine Anreicherung von Diäten mit Fischöl, welches die n3-Fettsäuren EPA und DHA enthält, beim Menschen mit einem ansteigenden Gehalt dieser Fettsäuren in den epidermalen Phospholipiden verbunden ist (ZIBOH 1992). In der Haut können diese beiden Fettsäuren sonst nicht gefunden werden. Auch die Metabolite der EPA und DHA, die 15-HEPE und 17-HoDHE (17-Hydroxydocosahexaensäure), sind dadurch in der Haut erhöht. Beide Metabolite hemmen die Bildung von LTB<sub>4</sub> in polymorphkernigen neutrophilen Zellen. Daraus wurde geschlossen, dass die Verabreichung von Fischöl als mögliche Monotherapie oder zusätzlich zu Standardbehandlungen von entzündlichen Hauterkrankungen eingesetzt werden kann (ZIBOH 2000).

VAUGHN et al. (1994) berichteten über eine Veränderung der LT-Produktion bei gesunden Hunden durch eine Diät, die einen hohen Gehalt an n6- und n3-Fettsäuren aufwies. Ein Verhältnis von 5:1 und 10:1 ergab ein Absinken der Konzentration des proinflammatorischen LTB<sub>4</sub> und ein Ansteigen des LTB<sub>5</sub>, welches eine 10- bis 100-fach geringere Wirkung als das LTB<sub>4</sub> zeigt und die LTB<sub>4</sub>-Rezeptoren blockiert. Zu dem unterschiedlichen Einfluss von n6- und n3-Fettsäuren auf die LTB<sub>4</sub>-Produktion der neutrophilen Granulozyten von Hunden führten BYRNE et al. (2000) Untersuchungen durch. Sie stellten fest, dass es bei einer 6-wöchigen Zufütterung von n3-Fettsäuren zu einem signifikanten Absinken der LTB<sub>4</sub>-Produktion im Vergleich zu einer Zufütterung von n6-Fettsäuren kam.

### 2.2.3 Immunmodulation durch Fettsäuren

Neben dem Einfluss auf die Leukotrien- und Prostaglandinproduktion besitzen die Fettsäuren auch andere immunmodulatorische Eigenschaften (OLIVRY et al. 2001b).

Eine Unterdrückung der Proteinkinase-C-Aktivität und damit eine Verringerung der Übertragung von Signalen von der Zelloberfläche zum Zellkern und geringere Zellaktivierung und Bildung der Eicosanoide beobachteten ROSETTI et al. (1995) bei der Inkubation von humanen T-Lymphozyten mit GLA und DGLA. YOON et al. (2002) überprüften die Wirksamkeit der GLA in Bezug auf den Serumgehalt des IFN $\gamma$  bei atopischen Menschen. Neben deutlich geringeren klinischen Symptomen ermittelten die Untersucher einen sinkenden Gehalt des IFN $\gamma$  im Serum der Patienten.

SNEDDON et. al. (2003) berichteten über eine Beeinflussung der Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathion-Peroxidase (GPx4) in humanen Endothelzellen der Nabelschnurvene durch die Verabreichung von ungesättigten Fettsäuren. Die GPx4 ist das einzige bekannte Enzym, das im Zusammenwirken mit dem  $\alpha$ -Tocopherol eine direkte Reduktion der Phospholipidhydroperoxide in Membranen und Lipoproteinen bewirkt. DHA- und LA-Supplementation führte zu einem Anstieg des Gehaltes an GPx4-mRNA, während die zusätzliche Gabe von AA keinen Einfluss auf die mRNA aufwies. Die enzymatische Aktivität der GPx4 wurde durch die DHA vermindert, durch die AA erhöht und war durch den Einsatz der LA unverändert.

ENDRES et. al. (1989) konnten in einer humanmedizinischen Studie nachweisen, dass die Verabreichung von n3-Fettsäuren in Form von 18g Fischöl über 6 Wochen in vitro zu einer sinkenden Synthese des Tumornekrosefaktors und des IL-1 in den mit einem Endotoxin stimulierten peripheren mononukleären Zellen führte.

Die „peroxisome proliferator-activated receptors“ (PPARs)  $\alpha$  und  $\gamma$  stellen wichtige Transkriptionsfaktoren dar, welche u.a. die Genexpression von Enzymen des Glucose- und Fettstoffwechsels beeinflussen (JUMP 2002). Die Bindung der n3-Fettsäure EPA an PPAR $\gamma$  führt zu einer erhöhten Expression der Lipoproteinlipase und von Fettsäuretransportern sowie zu einer Hemmung von Cytokinen und der COX-2 Expression (JUMP 2002). Auch verschiedene Eicosanoide, wie z.B. die 8(S)-Hydroxyeicosatetraensäure, können die PPARs aktivieren (KLIEWER 1997).

HUGHES et al. (1995) ermittelten ebenfalls einen Einfluss von n3-Fettsäuren auf die Genexpression. Sie untersuchten vor und nach einer 21-tägigen Zuführung von FO bei gesunden Menschen u.a. die Expression der Haupthistokompatibilitätskomplexe (MHC) HLA-DR und HLA-DP. Sie stellten nach diesen 21 Tagen eine Verminderung der beiden MHCs fest. Diese untersuchten MHCs sind Oberflächenantigene antigenpräsentierender Zellen und spielen eine entscheidende Rolle in der Zell-vermittelten Immunantwort. Die diätetische Supplementation von n3-Fettsäuren bewirkt somit auch über diesen Weg eine Immunsuppression.

### 2.2.4 Fettsäuren und ihre Bedeutung für die epidermale Lipidbarriere

Die äußerste Schicht der Haut, das Stratum corneum, bildet eine Permeabilitätsbarriere, die den Körper von landlebenden Lebewesen vor Austrocknung schützt. Diese Barriere setzt



sich aus verschiedenen Lipiden (Sphingolipiden, Cholesterol und Fettsäuren) zusammen und befindet sich im interzellulären Raum (WERTZ 2000). Die gestapelten Lipiddoppelschichten enthalten große Mengen an Sphingolipiden, wobei die Fraktionen des Acylceramids und des Acylglucosylceramids den höchsten Anteil an Linolsäure enthalten. Beim Fehlen von Linolsäure in der Nahrung wird diese in der Haut durch Öl- oder Meadsäure ersetzt, welche die Funktion der Linolsäure in der epidermalen Wasserbarriere nicht erfüllen können (ZIBOH u. MILLER 1990).

BURR und BURR (1930) berichteten in ihrer frühen Studie über die steigende orale Wasseraufnahme bei warmblütigen Tieren ohne ein Ansteigen der Urinmenge in Folge einer fettfreien Diät und erklärten dies durch einen möglicherweise größeren Wasserverlust über die Haut. SWEENEY und DOWNING (1970) bestätigten ebenfalls die Bedeutung der Lipide für die epidermale Barrierefunktion. Sie demonstrierten an Hautbiopsaten eine ansteigende Diffusion von Wasser in die Haut, nachdem diese mit fettentfernenden Lösungsmitteln (z.B. Azeton und Chloroform) behandelt wurden.

Bei der Untersuchung von Biopsieproben der Haut atopischer Menschen wurde neben einer Veränderung der Lipidzusammensetzung ein Ansteigen des Wasserverlustes und der Trockenheit der Haut beobachtet. Der Gehalt an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) war in atopisch veränderter Haut im Vergleich zu normaler Haut erhöht und der der n6-Fettsäuren erniedrigt (SCHÄFER u. KRAGBALLE 1990).

Es gibt nur wenige Studien, in denen der Hydratationsstatus und der Lipidgehalt der Haut von atopischen Hunden untersucht wurden (OLIVRY u. HILL 2001b). CHESNEY (1995) ermittelte die Hautfeuchtigkeit und die Kapazität der Wasserhaltung der Haut atopischer Hunde anhand der Messung der Leitfähigkeit und fand keinen Unterschied zwischen der Haut von atopischen und von gesunden Hunden. Der Lipidgehalt der Haut bei atopischen Hunden wurde von SCOTT et al. (1997) und TAUGBOL et al. (1998) untersucht. TAUGBOL et al. (1998) fanden ein niedrigeren Gehalt an Adrensäure in der Haut erkrankter im Vergleich zu der gesunder Hunde. SCOTT et al. (1997) fanden unterschiedliche Gehalte der Fettsäuren der Haut bei Hunden, die auf eine kommerzielle Diät ansprachen („Responderhunde“) und denen, die keine positiven klinischen Veränderungen zeigten („Nonresponderhunde“). Letztere zeigten vor der Diätanwendung einen höheren Gehalt an LA und einen niedrigeren Gehalt der GLA und AA im Vergleich zu ersteren.

#### 2.2.5 Fettsäurenmetabolismus bei atopischen und anderen entzündlichen Hauterkrankungen

Schon 1937 fanden BROWN und HANSEN in einer humanmedizinischen Studie mit atopischen Patienten erniedrigte Serumspiegel der Arachidonsäure und vermuteten einen Defekt im Metabolismus der n6-Fettsäuren, welcher einen möglichen Grund für die AD darstellen könnte. Jüngere Studien bestätigen, dass atopische Patienten eine gestörte Umwandlung der Linolsäure zu ihren Metaboliten aufweisen.

MANKU et al. (1984) fanden eine signifikante Erhöhung des Serumspiegels der LA bei Atopikern, während die Metabolite der LA, wie GLA, DGLA, AA und Adrensäure signifikant niedrigere Gehalte aufwiesen. Diese Beobachtung ließ erkennen, dass nicht nur eine fehlende Einnahme oder Absorption der EFAs, sondern auch ein möglicher Defekt der  $\Delta 6$ -

Desaturase für die Störung des Metabolisierungsweges verantwortlich ist. Die Autoren vermuten eine veränderte Proteinstruktur oder defekte Co-Faktoren des Enzyms (MANKU et al. 1984).

LINDSKOV und HOLMER (1992) untersuchten den Fettsäuregehalt im Plasma, in Erythrozyten und mononukleären Zellen von Patienten mit atopischer Dermatitis und fanden ebenfalls Veränderungen im Gehalt der n6-Fettsäuren. So war auch hier die LA erhöht und ihre Metabolite, die GLA und die AA, erniedrigt. Die Veränderungen mit der höchsten Signifikanz fanden die Autoren in Fettsäuren der Phospholipide der mononukleären Zellen. Im Plasma wurden in dieser Studie keine Veränderungen festgestellt. Die Fettsäurezusammensetzung des Plasmas und der Erythrozytenmembranen atopischer Patienten wurden auch von OLIWIEKI et al. (1991) untersucht. Sie fanden im Plasma höhere Konzentrationen der LA, sowie ein höheres Verhältnis dieser zu ihren Metaboliten. Die gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren der Phospholipide der Erythrozytenmembranen waren ebenfalls signifikant erhöht im Vergleich zu gesunden Menschen, während die DGLA, die AA, die Adrensäure, die EPA, die DPA und die DHA signifikant geringere Gehalte aufweisen.

In der Haut atopischer Menschen konnten auch Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung (siehe Kapitel 2.2.4) gefunden werden (SCHÄFER u. KRAGBALLE 1990).

Den Untersuchungen beim Menschen steht eine viel geringere Anzahl von Studien beim Hund gegenüber. SCOTT et al. (1997) fanden im Laufe ihrer Untersuchung keinen Unterschied in der Fettsäurezusammensetzung des Serums atopischer Hunde im Vergleich zu gesunden Hunden, während sich bei den Fettsäuren der Haut Veränderungen zeigten (siehe 2.2.4). SAEVIK et al. (2002) konnten ebenfalls keine Veränderung der Fettsäuren im Serum atopischer Hunde feststellen, die auf eine Metabolisierungsstörung der n6-Fettsäuren hindeuten.

## 2.2.6 Fettsäuren der Erythrozytenmembranen

Erythrozyten stellen die größte Zellpopulation im Blutkreislauf dar und spielen hier eine wichtige Rolle, z.B. im Sauerstoff-, Kohlendioxid- und Stickstoffoxidtransport. Sie sind Träger des Hämoglobins und verschiedener Rezeptoren, welche der Übermittlung von Signalen dienen (OONISHI et al. 1998). Erythrozyten haben eine kurze Lebensdauer. Es wird vermutet, dass dies auf die Aktivitätsminderung erythrozytärer Enzyme zurückzuführen ist, da eine Proteinbiosynthese durch den Verlust der genetischen Informationen des Zellkernes nicht möglich ist.

Die mittlere Überlebensdauer variiert zwischen den einzelnen Spezies, sie beträgt für den Menschen 100 bis 130 Tage, für den Hund 120, für die Katze 70, für das Pferd 140 bis 150, für das Rind 160 und für das Schwein 60 Tage (KRAFT u. DÜRR 1999).

Als Bestandteile von Zellmembranen und Membranen der Zellorganellen haben Fettsäuren in Abhängigkeit von ihrer Kettenlänge, sowie der Anzahl und der Position ihrer Doppelbindungen einen entscheidenden Einfluss auf die Fluidität dieser Membranen (ROTH u. KIRCHGEßNER 1992). Veränderungen in der Lipiddoppelschicht der Erythrozyten-

membranen beeinflussen Ionentransport, Membranpermeabilität, laterale Diffusion von Rezeptoren und Enzymaktivitäten, was wiederum zu einer Dysfunktion der Zellen und dadurch zur Verstärkung von Krankheitssymptomen führen kann (STEPOVAYA et al. 2003). Bei der Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen von Mensch, Hund, Kaninchen und Ratte fanden die Untersucher Variationen zwischen den einzelnen Spezies. Während beim Hund der Gehalt der LA niedrig und der AA hoch war, zeigte sich beim Kaninchen ein umgekehrtes Verhältnis. Die C22:6n3 wies beim Menschen, bei der Ratte und beim Kaninchen im Gegensatz zum Hund einen hohen Gehalt auf (PEKINER u. PENNOCK 1995). Einen Überblick über die in verschiedenen Arbeiten bestimmten Fettsäuren der Erythrozytenmembranen gibt die Tabelle 2.3.

Tab. 2.3: Prozentuale Verteilung der in verschiedenen Studien bestimmten Fettsäuren der Erythrozytenmembranen; 1 = LINDSKOV und HOLMER (1992), 2 = OLIWIECKI et al. (1991), 3 = BIAGI et al. (1994), 4 = PEKINER und PENNOCK (1992), 5 = EDER et al. (1992), n.b. = nicht bestimmt, n.a. = nicht angegeben.

Fettsäuren	1	2	3	4				5
	Mensch	Mensch	Mensch	Mensch	Hund	Kaninchen	Ratte	Ratte
<b>C16:0</b>	23,1	22,9	20,9	22,9	12,9	23,8	28,8	27,2
<b>C18:0</b>	14,7	12,8	16,5	15,9	23,4	21,3	13,7	14,6
<b>C18:1n9</b>	16,1	15,8	14,3	15,8	21,2	7,4	7,7	9,7
<b>C18:2n6</b>	13,1	14,7	9,2	12,7	5,1	29,2	12,8	9
<b>C18:3n6</b>	0,1	n.a.	0,5	0,7	<0,1	1,87	1,1	n.a.
<b>C20:3n6</b>	1,8	1,6	1,7	0,7	<0,1	0,6	0,5	n.a.
<b>C20:4n6</b>	15,7	15,4	16,5	16,2	31,6	5,7	22,4	24,2
<b>C22:6n3</b>	5,1	6,2	5,3	2,5	<0,1	0,6	1,7	2,6
<b>C24:0</b>	n.a.	n.a.	n.b.	2,9	n.b.	1,6	3,6	1,7

Die Plasmaphospholipide werden hauptsächlich in der Leber synthetisiert und spiegeln den Fettsäurenmetabolismus der Hepatozyten wieder. Die Fettsäuren der Lipiddoppelschicht der Erythrozytenmembranen reflektieren den Metabolismus im gleichen Maße (LINDSKOV u. HOLMER 1992). Demzufolge spiegelt die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen die diätetische Aufnahme von Fetten sowie das Zusammenspiel dieser mit endokrinen Veränderungen und Umwelteinflüssen wieder (PALA et al. 2001, ZAMARIA 2004). GRANOT et al. (2000) untersuchten die veränderte Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen von mit Muttermilch und mit Milchersatz gefütterten Säuglingen und fanden hier einen signifikant höheren Gehalt an n3-Fettsäuren bei der Ernährung mit Muttermilch.

Somit eignen sich rote Blutkörperchen zur Darstellung des PUFA-Metabolismus und geben Informationen über die Integration dieser Fettsäuren in die Zellmembranen im allgemeinen. Über eine Analyse der Fettsäuren der Erythrozyten sind Aussagen zu diätetisch verursachten Imbalancen, aber auch über den gestörten Metabolismus von Lipiden möglich. Gleichzeitig kann sie auch bei der Erkennung und Vorbeugung von chronischen Erkrankungen helfen, in denen Veränderungen der PUFAs beobachtet wurden, wie z.B.

Erkrankungen der Koronargefäße, Bluthochdruck, Tumorerkrankungen, Diabetes, Entzündungen, Atopische Dermatitis etc. (ZAMARIA 2004).

## 2.2.7 Therapeutischer Einsatz von Fettsäuren

Die essentiellen Fettsäuren finden häufige, meist unterstützende Anwendung in der Therapie der AD und CAD (OLIVRY et al. 2001c). Durch Modulation der Prostaglandin- und Leukotrienproduktion, Hemmung der zellulären Aktivierung und Cytokinsekretion und durch Veränderung der Lipidbarriere besitzen die essentiellen Fettsäuren entzündungsmodulierende Eigenschaften. Die Peroxisomenproliferatoren-Aktivierte Rezeptoren (PPARs  $\alpha$  und  $\gamma$ ) spielen hierbei eine bedeutende Rolle. Diese Rezeptoren werden durch natürliche und synthetische Liganden aktiviert. Sie beeinflussen den Fettsäurenmetabolismus und das Entzündungsgeschehen. Fettsäuren und deren Metabolite sind natürliche Liganden der PPARs (CHINETTI et al. 2000).

### 2.2.7.1 Einsatz von Fettsäuren bei der Atopischen Dermatitis (AD) des Menschen

Wegen der möglicherweise defekten Umwandlung der LA zur GLA und des dadurch verursachten Defizits der DGLA und der AA soll die Behandlung mit Nachtkerzenöl (evening primrose oil – EPO, 88 % LA, 12 % GLA, Vitamin E) eine Basis für die Therapie der AD bilden (HORROBIN u. MORSE 1995).

MORSE et al. (1989) verglichen die Ergebnisse ihrer Studie mit neun weiteren Untersuchungen zur Therapie der atopischen Dermatitis des Menschen mit Nachtkerzenöl (Epogam®) und kamen zu dem Schluss, dass dadurch generell eine Verbesserung des klinischen Bildes im Zusammenhang mit einer Erhöhung von DGLA und AA im Plasma der Patienten erzielt werden konnte. Außerdem zeigte sich in dieser Studie ein dosisabhängiger Effekt von GLA; höhere Dosen führten zu einem größeren klinischen Effekt. Auch BIAGI et al. (1994) fanden bei Kindern mit AD nach einer hochdosierten Behandlung mit EPO (0.5 g/kg/Tag) einen deutlichen Anstieg der n6-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen. Besonders die DGLA, die Vorstufe des antiinflammatorisch wirksamen Prostaglandin  $E_1$ , war deutlich erhöht. Bei den klinischen Symptomen wurden jedoch keine signifikanten Veränderungen festgestellt.

Bei einem Einsatz von 6 g EPO in Form von Kapseln bei Patienten mit AD fanden SCHÄFER und KRAGBALLE (1991) einen deutlichen Anstieg der DGLA von 45 % in den Phospholipiden der neutrophilen Granulozyten. In der Haut dieser Patienten wurde ebenfalls ein Anstieg der DGLA um 45 % im Phosphatidylcholin und um 15 % im Phosphatidylethanolamin ermittelt.

VAN GOOL et al. (2002) untersuchten die prophylaktische Wirksamkeit der Supplementierung von GLA auf die Erkrankungsrate von Säuglingen mit einem hohem familiären Risiko einer atopischen Erkrankung der Haut. Sie fanden bei den später erkrankten Kindern eine mildere Symptomatik, wenn diese vorbeugend GLA verabreicht bekommen hatten, im Vergleich zur Kontrollgruppe erkrankter Kinder ohne eine solche Behandlung. Es gab jedoch keinen Zusammenhang zwischen der positiven klinischen

Entwicklung und einem Anstieg des Plasmaphospholipidgehaltes der GLA bei den Säuglingen.

Die n3-Fettsäuren EPA und DHA, Derivate der  $\alpha$ -Linolensäure, sind zwei für die Eicosanoidbildung bedeutende Fettsäuren, deren erhöhte Aufnahme über die diätetische Versorgung mit Fischöl erreicht werden kann. Eine signifikante Verbesserung des Juckreizes und der Schuppenbildung erreichten BJORNEBOE et al. (1987) nach einer Verabreichung von 10 g Fischöl/Tag (60 % EPA, 40 % DHA) über 12 Wochen an atopische Patienten. Der Gehalt der EPA und DHA in den Plasmaphospholipiden dieser Patienten war nach der Behandlung signifikant erhöht. Bei atopischen Kindern wurde durch eine Ergänzung der Nahrung mit 184 mg n3-Fettsäuren pro Tag in Form von Thunfischölkapseln ebenfalls eine signifikante Verringerung der Symptome erreicht (PEAT et al. 2004).

SOYLAND et al. (1993) verglichen die Effektivität der Behandlung von 6 g n3-Fettsäuren im Vergleich zur gleichen Menge n6-Fettsäuren bei Patienten mit Psoriasis. Trotz der deutlicheren Veränderung der Plasmafettsäuren bei der Verabreichung der n3-Fettsäuren (Anstieg der n3-Fettsäuren, geringeres Verhältnis der AA zur EPA, niedrigerer n6-Fettsäurespiegel) war der positive klinische Effekt bei beiden Patientengruppen gleich. Nach der Verabreichung der n6-Fettsäuren war der Gesamtgehalt dieser sowie der der AA im Plasma signifikant erhöht. In einer weiteren Studie kamen SOYLAND et al. (1994) mit der Supplementierung von 6 g n3-Fettsäuren bei Patienten mit AD zum gleichen Ergebnis.

VAN GOOL et al. (2004) untersuchten in einer Meta-Analyse die verschiedenen Publikationen über die Wirksamkeit der oralen Verabreichung von PUFA. Sie versuchten, über eine Angleichung von Auswahl- und Auswertungskriterien eine einheitliche Beurteilung des Effektes der Fettsäuresupplementierung zu erreichen. Die Untersucher fanden keinen positiven Effekt durch die Zuführung von Fettsäuren. Einzig eine signifikante Verringerung der Schuppenbildung durch die Verabreichung von Fischöl wurde in dieser Analyse festgestellt.

Neben der Untersuchung der systemischen Wirksamkeit von Fettsäuren wurde auch die topische Anwendung auf den erkrankten Hautstellen getestet. Die lokale Verabreichung einer ceramid- und fettsäurehaltigen Lotion an Menschen mit atopischer Dermatitis führte zur Verbesserung der Hautbeschaffenheit (Reduzierung von Trockenheit und Schuppen) sowie zur Verminderung von Juckreiz und Hautrötung (BERARDESCA et al. 2001).

Mit einer EPA- und DHA-haltigen Salbe konnte ebenfalls eine Besserung des klinischen Bildes erzielt werden (WATANABE u. KURODA 1999).

#### 2.2.7.2      Therapeutischer Einsatz von Fettsäuren zur Behandlung der CAD

Die ersten klinischen Studien zur Anwendung von Fettsäuren beim atopischen Hund wurden von OLIVRY et al. (2001b) zusammengefasst und verglichen. Die Angaben über eine Wirkung auf die klinische Symptomatik differieren stark. So konnten z.B. SCOTT und MILLER (1990) keine Besserung der Symptome von mehr als 50% finden, während PUKAY (1987) bei 40% der untersuchten Hunde ihrer Studie eine signifikante Verbesserung der

klinischen Anzeichen der Atopie beschrieben. Die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien lassen sich durch die verschiedenen Versuchsbedingungen erklären. Es handelte sich meist um Experimente ohne Placebokontrolle mit großen Unterschieden bei der verabreichten Dosis oder der Therapiedauer.

SCOTT et al. (1992) verglichen die Wirkung von DVM Derm Caps® (269 mg LA, 40 mg GLA, Vitamin E) mit EfaVet® (277 mg LA, 30,8 mg GLA, 10,3 mg EPA, 6,8 mg DHA, Vitamine und Mineralstoffe), Nachtkerzenöl (320 mg LA, 40 mg GLA, Vitamin E) und Fischöl (90 mg EPA, 60 mg DHA, Vitamin E). Jedem der 20 atopischen Hunde wurde das jeweilige Produkt zwei Wochen lang verabreicht. Während dieser insgesamt acht Wochen wurde bei 25% der behandelten Tiere ein exzellentes bis gutes Ergebnis bei der Reduzierung des Juckreizes erreicht. Dabei führte bei zwei Hunden die Gabe von Nachtkerzenöl, bei einem Hund die Gabe von EfaVet®, bei einem Hund die Gabe von DVM Derm Caps® allein und bei einem weiteren Hund die Gabe von DVM Derm Caps® und Fischöl zum Erfolg.

Nach diesen frühen Studien wurden einige placebokontrollierte Untersuchungen mit verschiedenen Präparaten vorgenommen.

Die Wirkung von Olivenöl auf die Symptomatik sowie die Fettsäurezusammensetzung im Serum bei Hunden, die an CAD erkrankt waren, wurde in einer Studie von BOND und LOYD (1992) getestet. Als Kontrolle supplementierten sie bei einer gleich großen Gruppe von Hunden eine Kombination von EPO und Fischöl (FO). Bei keiner der beiden Gruppen trat eine Verbesserung der Symptomatik auf. In der Olivenöl-Gruppe kam es sogar bei über 60% der untersuchten Hunde zu einer Verschlechterung. Die Fettsäurezusammensetzung im Serum war, bis auf eine Verringerung der Konzentration der DGLA, unverändert. Das Olivenöl zeigte sich in dieser Studie nicht als effektives therapeutisches Mittel zur Behandlung der CAD.

BOND und LOYD (1994) setzten in einer weiteren Untersuchung konzentrierte essentielle Fettsäuren ein, um die Prednisolondosis bei der Behandlung atopischer Hunde zu senken. Alle Hunde dieser Studie wurden bereits mit einer Kombination aus EPO und FO (EfaVet Regular 500mg Kapseln; Efamol Vet) ohne klinische Erfolge behandelt. In dieser Studie wurde nun ein Produkt mit einem Gehalt von 280 mg GLA und 50 mg EPA (HGF Kapseln; Efamol Vet) verwendet, um zu testen, ob hiermit eine Senkung der Prednisolondosis erzielt werden kann. Nach 12-wöchiger Behandlung konnte die Prednisolongabe in 8 von 11 Fällen verringert werden. Die Autoren merken jedoch an, dass die Besitzer möglicherweise auch einen gesteigerten Juckreiz toleriert haben könnten, um die Prednisolondosis zu verringern.

Eine zweistufige Untersuchung zur Supplementierung von Fettsäuren bei CAD wurde von STURE und LOYD (1995) durchgeführt. In einer ersten Stufe bekamen 30 Hunde eine Kombination aus EPO und FO in Kapselform (430 mg EPO, 107 mg FO, 10 mg Vit. E je Kapsel Efavet Regular, Efamol) in einer Dosis von drei Kapseln je 10 kg KG über neun Wochen. In dieser Zeit war kein signifikanter Unterschied in der Symptomatik im Vergleich zu einer initialen dreiwöchigen Gabe von Olivenöl zu erkennen. In der zweiten Stufe sollte die Kapselgabe so lange erhöht werden, bis ein klinischer Effekt erkennbar ist. Bei 19 von 26 Hunden, die diese Stufe über 17 Monate absolviert haben, wurde eine Besserung der klinischen Symptome erreicht. Die mittlere Dosis pro 10 kg KG betrug hierbei 4,2 Kapseln. In dieser Studie konnte somit ein dosis- und zeitabhängiger positiver Effekt der Behandlung mit EPO und FO ermittelt werden.

Eine signifikante Besserung der klinischen Symptomatik der CAD erreichte auch HARVEY (1999). Aus 21 Hunden, bei denen CAD diagnostiziert wurde, bildete der Untersucher drei Gruppen. Gruppe A erhielt eine Mischung aus Borretschsamenöl und Fischöl (42mg GLA, 4,2mg EPA und 2,7mg DHA je Kapsel), Gruppe B bekam die Hälfte dieser Mischung und die andere Hälfte in Form von Olivenöl und in Gruppe C verabreichten die Besitzer nur Olivenöl. Alle Präparate wurden in Kapselform zur Verfügung gestellt. Der Untersucher ermittelte jeweils vor und nach der achtwöchigen Behandlung Juckreiz, Rötung, Hautödeme, Alopezie und sekundäre Exkorationen in Form einer Punkteskala von eins bis zehn. In Gruppe A fand sich eine signifikante Besserung der jeweiligen einzelnen Kriterien und in Gruppe B in der Summe der Kriterien. Keine Veränderung fand man bei den Tieren der Gruppe C. Durch die unterschiedlichen Ergebnisse in Gruppe A und Gruppe B wurde auch hier, indirekt, eine dosisabhängige Verbesserung festgestellt.

Nach OLIVRY et al. (2001b) gibt es 3 Studien, welche die Wirkung von kommerziell erhältlichen Futtermitteln mit einer antiallergischen Potenz untersuchten. Das Verhältnis von essentiellen n6- zu n3- Fettsäuren lag in diesen Futtermitteln bei fünf zu eins. Mit diesen Futtermitteln gelang eine Reduzierung des Juckreizes auf die Hälfte bei 43-45 % der erkrankten Hunde (SCHICK et al. 1996, SCOTT et al. 1997, ROSYCHUK u. SCOTT-FIESELER 2000).

## 2.3 Vitamin E

### 2.3.1 Definition, Chemie und Vorkommen in Nahrungs- und Futtermitteln

Vitamin E ist der Oberbegriff für Tocopherole und Tocotrienole. In der Natur kann man acht verschiedene Formen des Vitamin E finden: je vier Tocopherole und Tocotrienole ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  und  $\delta$ ). Die synthetischen Tocopherole, deren Ester und die der natürlich vorkommenden Tocopherole werden ebenfalls der Bezeichnung Vitamin E zugeordnet (McDOWELL 1989). Die hauptsächliche natürliche Quelle für die Aufnahme von Vitamin E sind pflanzliche Öle (KAMAL-ELDIN u. APPELQVIST 1996). Die qualitative und quantitative Verbreitung der Derivate des Vitamin E in Pflanzen ist sehr unterschiedlich.

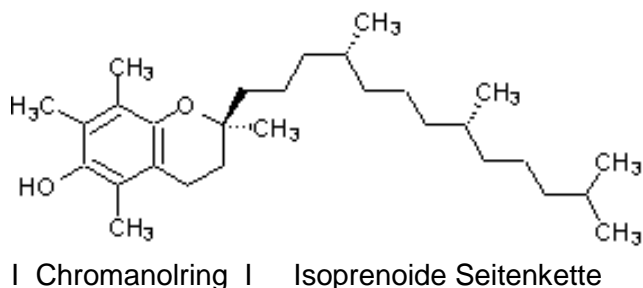


Abb. 2.7: Strukturformel des  $\alpha$ -Tocopherols (Quelle: de.wikipedia.org)

Die strukturellen Unterschiede zwischen  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Formen bestehen in Anzahl und Stellung der Methylgruppen am Chromanolring (McDOWELL 1989).

### 2.3.2 Aufnahme und Plasmagehalt des Vitamin E

In verschiedenen europäischen und amerikanischen Populationsstudien wird von einer mittleren täglichen Aufnahme von 6 bis 12 mg  $\alpha$ -Tocopherol je Tag berichtet. Die Empfehlung verschiedener humaner Ernährungsgesellschaften liegt bei 12 bis 15 mg  $\alpha$ -Tocopherol je Tag (STAHL et al. 2002).

Der Plasmagehalt des Tocopherols beim Hund beträgt unter physiologischen Verhältnissen 5 – 15 mg/l Blutplasma, je nach der Höhe der Zufuhr (KOLB 1996). Die Bedarfsempfehlung für die tägliche Aufnahme von Vitamin E liegt bei 1 bis 2 mg/kg KG zur Erhaltung, im Wachstum, in der Gravidität und in der Laktation (MEYER u. ZENTEK 2001) bzw. bei 24 mg/kg Futtermittel (National Research Council 2003).

HENDRIKS et al. (2002) berichteten von einem erhöhtem Vitamin E-Bedarf bei adulten Katzen, wenn ein erhöhter Gehalt an ungesättigten Fettsäuren in der Ration vorlag.

Im Vergleich zu anderen fettlöslichen Vitaminen ist bei der Supplementierung von Vitamin E die Gefahr einer Überdosierung gering. Hohe Vitamin E-Dosen können jedoch bei einem bestehenden Vitamin-K-Defizit zu Koagulationsstörungen der Blutplättchen führen (MEYDANI 1995). Nebenwirkungen in dieser Form wurden von BENDICH und MACHLIN (1989) beim Menschen nach der Aufnahme von über 3,2 g Vitamin E festgestellt.

Die obere Grenze für die tägliche Einnahme von  $\alpha$ -Tocopherol wird mit 1000 mg/Tag angegeben. Diese Grenze wurde von Daten abgeleitet, die durch die monatelange Fütterung von Ratten mit hohen Dosen von Vitamin E entstanden (TRABER 2004).

### 2.3.3 Funktionen des Vitamin E

Durch den aeroben Metabolismus des Organismus entstehen reaktive Sauerstoffverbindungen, die Fette, Proteine, Kohlenhydrate und DNA schädigen können (CHANCE et al. 1979). Tocopherole und Tocotrienole sind bekannt für ihre effektive Hemmung der Oxidation von Lipiden in Nahrungsmitteln, Futterstoffen und biologischen Systemen. Sie besitzen die Fähigkeit, ihr phenolisches Wasserstoffatom auf freie Radikale (Fettsäure-, Peroxyd- oder Dyoxyradikale) zu übertragen. Dadurch wird ein Tocopherylradikal gebildet, das nunmehr keine peroxidative Wirkung besitzt. Ursache dafür ist eine Resonanzstabilisierung durch die hohe Mesomeriebereitschaft des phenolischen Ringes (BURTON u. INGOLD 1986). Tocopherylradikale können durch weitere Antioxidantien, wie das Vitamin C, in einem Redox-Zyklus regeneriert werden (PACKER 1992). Die antioxidative Aktivität der Tocopherole in vivo ist unterschiedlich, sie ist bei  $\alpha$ -Tocopherol am größten ( $\alpha > \beta > \gamma > \delta$ ) (KAMAL-ELDIN und APPELQVIST 1996).

$\alpha$ -Tocopherol schützt die PUFA der Lipiddoppelschicht von Membranen vor Oxidation. Eine weitere bedeutende Funktion dieses Vitamins innerhalb von Membranen ist die Komplexbildung mit den Produkten der Lipidhydrolyse, wie den Lysophospholipiden und



freien Fettsäuren. Diese Komplexe führen zur Stabilisierung der Membranen und hemmen die detergenten Eigenschaften der Produkte der Lipidhydrolyse (QUINN 2004).

Weiterhin kann  $\alpha$ -Tocopherol direkt oder indirekt das Entzündungsgeschehen beeinflussen. Voraussetzung für die Bildung von Lipidmediatoren ist die Freisetzung von Fettsäuren aus Membranphospholipiden. Die cytosolische Phospholipase  $A_2\alpha$  (cPLA $_2\alpha$ ) katalysiert die Freisetzung der Arachidonsäure, deren Eicosanoide eine große Bedeutung im Entzündungsgeschehen haben. Reaktive Sauerstoffverbindungen und Lipidperoxide scheinen die Aktivität der cPLA $_2\alpha$  zu steigern (GOLDMAN et al. 1992). Die antioxidative Eigenschaft von  $\alpha$ -Tocopherol wirkt somit durch Neutralisation der Lipidperoxide auf den Arachidonsäuremetabolismus und auf das Entzündungsgeschehen.

FUHRMANN und SALLMANN (1995) fanden bei einer durch Vitamin-E-Mangel bedingten Enzephalomalazie der Hühner eine erhöhte Aktivität der cPLA $_2\alpha$  im Kleinhirn und damit ebenfalls eine Beeinflussung des Arachidonsäuremetabolismus.

RICCIARELLI et al. (2002) beschrieben in ihrer Veröffentlichung eine Hemmung der 5-Lipoxygenase und somit eine Verringerung der Bildung des LTB $_4$ , das wesentliche entzündungsfördernde Eigenschaften besitzt (siehe Abschnitt 2.2.2).

Eine Analyse verschiedener Studien zur Modifikation der Leukotrienproduktion durch Tocopherole bei gesunden und allergisch erkrankten Menschen führten CENTANNI et al. (2001) durch. Das Ergebnis zeigte eine Modulation der LT-Produktion in vivo und in vitro durch den Einsatz von Tocopherolen. Die Untersucher schlossen hieraus, dass es eine Beziehung zwischen Vitamin-E-Gehalt und der 5-LOX-Aktivität gibt. Sie wiesen darauf hin, dass diese Beziehung bei asthmatischen und allergischen Patienten weiter untersucht werden sollte.

#### 2.3.4            Therapeutischer Einsatz von Vitamin E bei allergisch bedingten Hauterkrankungen

Der pharmakologische Einsatz von Vitamin E beruht auf zwei Eigenschaften: dem antioxidativen Effekt des Vitamin E und der Stabilisierung biologischer Membranen. Diese scheinen für die Unterdrückung von Zellzerstörung und Freisetzung von Entzündungsmediatoren verantwortlich zu sein (KURIYAMA et al. 2002).

Eine lokale Behandlung von Hautbereichen bei Mäusen mit einer Vitamin-E-haltigen Salbe, bei denen nach topischer Applikation eines chemischen Agens (DNFB-Azeton) eine Kontaktdermatitis ausgelöst wurde, zeigte einen deutlichen Heilerfolg. Bei der Anwendung der 20 – 40%igen Vitamin-E-Salbe besserte sich das klinische Bild vergleichbar mit dem Behandlungserfolg einer 0,5%igen Prednisolonsalbe. Eine mikroskopische Untersuchung der betroffenen Hautbereiche zeigte zudem eine deutliche Reduktion der Schädigung der Keratinozyten im Vergleich zu unbehandelter und mit Prednisolon behandelter Haut (KURIYAMA et al. 2002).

Bei mit Ovalbumin immunisierten Mäusen untersuchten BANDO et al. (2003) die Wirkung von Vitamin E und  $\beta$ -Carotin auf den Antigen-spezifischen und Gesamt-IgE-Gehalt. Das Ergebnis zeigte eine Erniedrigung beider IgE-Typen bei der Supplementierung des Futters

mit Vitamin E und  $\beta$ -Carotin. Die Verabreichung von  $\beta$ -Carotin allein ergab keine Beeinflussung der IgE-Gehalte. Die wirksame Dosis des  $\alpha$ -Tocopherolacetats lag mit 10 mg, 50 mg und 100 mg je 100 g Diät über dem der herkömmlichen Dosis von 5 mg je 100 g. Ein Zusatz von 5 mg  $\alpha$ -Tocopherolacetat je 100 g Diät zeigte in dieser Studie keine Wirkung auf den Gehalt des IgE. Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen auf einen Einfluss der kombinierten Anwendung von Vitamin E und  $\beta$ -Carotin auf die IgE-Produktion und damit auf eine Unterdrückung der allergischen Typ-I-Reaktion schließen.

Der therapeutische Einsatz von Vitamin E bei an Atopie erkrankten Menschen wurde von TSOURELI-NIKITA et al. (2002) untersucht. Eine Gruppe von 50 atopischen Patienten (VE-Gruppe) erhielt täglich 400 IU Vitamin E je Tag über acht Wochen. Eine zweite Gruppe (PL-Gruppe) bekam über den gleichen Zeitraum ein Placebo verabreicht. Leichte klinische Besserungen zeigten zehn Patienten der VE- und fünf Patienten der PL-Gruppe. Starke klinische Besserungen wurden bei 23 Patienten der VE-Gruppe beobachtet, im Gegensatz zu einem Patient der PL-Gruppe. Eine vollständige Remission der atopischen Dermatitis trat bei sieben der 50 Patienten der VE-Gruppe ein, bei der PL-Gruppe wurde jedoch keine beobachtet. Ein Absinken des IgE-Gehaltes bei den Patienten mit einer Besserung bzw. Remission der Symptome wurde in der VE-Gruppe um 62% und in der PL-Gruppe um 34% festgestellt. TSOURELI-NIKITA et al. (2002) zogen aus ihrer Studie die Schlussfolgerung, dass Vitamin E ein sehr guter therapeutischer Ansatzpunkt bei der Behandlung atopischer Patienten sein könnte.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Auswahl der Hunde

Die für die vorliegende Arbeit verwendeten Tiere stammen aus der Klientel der Kleintierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät in Leipzig sowie der Kleintierpraxis Sturm in Merseburg. Ausgesucht wurden Hunde, die deutliche klinische Anzeichen der atopischen Erkrankung aufwiesen und im gleichen Haushalt mit einem Hund ohne Hautkrankheit lebten.

Bei der Auswahl wurde besonderen Wert sowohl auf das Vorhandensein der klinischen Symptome als auch auf gleiche Umwelteinflüsse gelegt. Basierend auf einer speziellen Hautuntersuchung, einer zytologischen Kontrolle und der Untersuchung eines Hautgeschabsels erfolgte der Ausschluss von Infektionen der Haut mit Bakterien oder Pilzen, sowie des Befalls der Hunde mit Ektoparasiten. Die zusammengehörenden Hunde sind beide mit dem gleichen kommerziellen Alleinfuttermittel gefüttert worden.

Keines der Tiere bekam in den letzten vier Monaten ein Fettsäurepräparat verabreicht und eine eventuell vorhandene systemische Glucocorticoidtherapie wurde mindestens drei Wochen vor dem Intrakutantest und der Blutentnahme abgesetzt. Der Einsatz lokaler Glucocorticoide wurde für einen Zeitraum von zwei Wochen vor dem Hauttest und der Blutentnahme vermieden.

Tab. 3.1: Zootechnische Daten und Fütterung; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund, BSH = Berner Sennenhund, DSH = Deutscher Schäferhund, GR = Golden Retriever, WHWT = West Highland White Terrier, JR = Jack-Russel-Terrier, a = Jahre; m = männlich, m(k) = männlich/kastriert, w = weiblich, w(k) = weiblich/kastriert

Tier-Nr.	Rasse	Alter	Geschlecht	Fütterung
1(A)	Collie-Mix	4a	w	Pedigree Pal Lamm und Reis,
1(G)	DSH	5a	m	Pedigree Pal Lamm und Reis,
2(A)	DSH	6a	m	Eukanuba TF Lamm und Reis
2(G)	BSH	4a	m	Eukanuba TF Lamm und Reis
3(A)	GR	9a	w(k)	Pedigree Pal Light TF
3(G)	DSH-Mix	5a	w(k)	Pedigree Pal Light TF
4(A)	JR	4a	m	Royal Canine Vet Size
4(G)	DSH-Mix	4a	w	Royal Canine Vet Size
5(A)	Spitz-Collie-Mix	5a	m(k)	Artos TF
5(G)	Kleinpudel	4a	w	Artos TF
6(A)	Bobtail	6a	m	Matzinger TF, ggl. Fleischtopf von Loyal
6(G)	Dackel-Mix	8a	m	Matzinger TF, ggl. Fleischtopf von Loyal
7(A)	Shih-Tzu	2a	m	Pedigree Pal Dosenfutter, ggl. Frolic
7(G)	WHWT	2a	m	Pedigree Pal Dosenfutter, ggl. Frolic
8(A)	Dt. Boxer	4a	w	Pedigree Pal multicomplete
8(G)	Terrier-Mix	13a	m(k)	Pedigree Pal multicomplete

### 3.1.1 Anamnese, Klinisches Bild

Die Anamnese erfolgte mit Hilfe der Haupt- und Nebenkriterien für das Feststellen einer Atopie bei Hunden und Menschen (nach WILLEMSE 1990).

Hauptkriterien:

- Juckreiz
- Beteiligung von Gesicht und/oder Zehen
- Lichenifikation Tarsal-/Karpalgelenk
- Chronisch rezidivierende Dermatitis
- Familiäre Vorgeschichte
- Rassedisposition
- Otitis externa

Nebenkriterien

- Einsetzen vor dem 3. Lebensjahr
- Rötung des Gesichts, Lidentzündung
- Bakterielle Lidbindehautentzündung
- Oberflächliche Staphylokokkenpyodermie
- Positiver Intrakutantest
- Erhöhtes spezifisches Serum-IgE

Die Schwere der Erkrankung wurde in drei verschiedene Grade eingeteilt.

Grad 1: mindestens zwei Haupt- und drei Nebenkriterien  
 Grad 2: mindestens drei Haupt- und drei Nebenkriterien  
 Grad 3: mindestens vier Haupt- und drei Nebenkriterien

Tab. 3.2: Anzahl der Atopiekriterien und errechneter Atopiegrad; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

Tier-Nr.	Anzahl der Hauptkriterien	Anzahl der Nebenkriterien	Atopie-Grad
1(A)	2	3	1
1(G)	0	1	0
2(A)	6	5	3
2(G)	0	1	0
3(A)	5	4	3
3(G)	0	1	0
4(A)	3	3	3
4(G)	0	1	0
5(A)	5	4	3
5(G)	0	1	0
6(A)	3	3	2
6(G)	0	1	0
7(A)	4	3	3
7(G)	0	1	0
8(A)	5	5	3
8(G)	0	0	0

Für jeden Patienten wurde in Zusammenarbeit mit dem Besitzer ein Fragebogen ausgefüllt (siehe Anhang). Jeder Atopiker wurde einem der drei Grade zugeordnet.

### 3.1.2 Atopietests

Bei den Atopikern wurden jeweils ein Intrakutan- und ein IgE-Test durchgeführt, beim entsprechenden Partner nur der IgE-Test.

#### 3.1.2.1 Intrakutantest

Der Intrakutantest erfolgte mit einem handelsüblichen Test (Fa. PH ALLERGIE, Emmerich), bestehend aus 11 Allergenen. Zur Auswahl kamen solche Allergene oder Allergenmischungen, die bei atopischen Erkrankungen in Deutschland die größte Rolle spielen:

Gräserpollenmischung (Bermudagrass o. Hundszahngras, Gartengräser, Ruchgras, Wiesenlieschgras)	
Baumpollenmischung (Birke, Erle, Haselnuss)	
Kräuterpollenmischung (Gemeiner Beifuß, Brennnessel, Löwenzahn und Spitzwegerich)	
Katzenepithelien	
<i>Dermatophagoides farinae</i> (Mehlmilbe)	
<i>Tyrophagus putrescentia</i> (Speisemilbe 1)	
<i>Acarus siro</i> (Speisemilbe 2)	
<i>Glycophagus destructor</i> (Heumilbe)	
Hausstaub	
Schafswolle	
<i>Ctenocephalides</i> (Floh)	
Positivkontrolle	Histamin
Negativkontrolle	physiologische Kochsalzlösung

Am seitlichen Brustkorb der Hunde wurde eine Fläche von 10 cm x 10 cm freigeschoren, die Injektionspunkte mit Hilfe eines Hautstiftes markiert und von der jeweiligen Allergenlösung sowie der Positiv- und Negativkontrolle 0,1 ml intrakutan injiziert. Auf eine Desinfektion der Hautfläche mit einem Hautdesinfektionsmittel ist verzichtet worden, da diese zu entzündlichen Reaktionen führen kann, die das Ergebnis maßgeblich verfälschen. Nur einer der untersuchten Hunde (der Atopiker des zweiten Paares) wurde, um den Intrakutantest durchführen zu können, mit dem Präparat Domitor® (Pfizer) sediert. Nach 15 Minuten konnte das Ergebnis abgelesen und dokumentiert werden. Beurteilt wurden die Quaddelgröße und das Vorhandensein eines Erythems.

Eine Auswertung des Testes erfolgte nur, wenn die Positivkontrolle (Histaminreaktion) eine deutliche (Größe der Quaddel mindestens 12 mm) und die Negativkontrolle keine Veränderung aufwies. Die Schwellung einer Allergeninjektionsstelle gleich der

Histaminreaktion entsprach einer Wertung von „+++“. Eine Veränderung größer oder gleich der Hälfte der Histaminreaktion wurde mit „++“ bewertet, die kleiner der Hälfte der Histaminreaktion mit „+“ und eine solche größer des Histamins mit „++++“. Jede Reaktion größer oder gleich der „++“ wurde als positiver Intrakutantest eingeordnet.

### 3.1.2.2 IgE-Tests

Die IgE-Tests führte die Firma Laboklin, Bad Kissingen, durch. Im Zeitraum der Probenuntersuchung wurden in diesem Labor zwei verschiedene ELISA-Tests verwendet: ein monoklonaler Antikörper(AK)-Test und ein Fcε-Rezeptor-Test.

Zusammensetzung des monoklonalen AK-Testes:

Vortest:	Pollen, Schimmelpilze, Milben, Futtermittel, Flohspeichel
Saisonale Allergene:	<ul style="list-style-type: none"><li>- Lolchgras, Ruchgras, Roggen, Honiggras</li><li>- Beifuß, Spitzwegerich, Weißer Gänsefuß</li><li>- Goldrute, Brennessel, Löwenzahn</li><li>- Erle, Haselnuss, Birke, Buche</li><li>- Saalweide I + II, Pappel I + II, Liguster</li></ul>
Ganzjährige Allergene:	<ul style="list-style-type: none"><li>- <i>Penicillium notatum</i>, <i>Cladosporium herbarum</i>, <i>Rhizopus nigricans</i></li><li>- <i>Alternaria alternata</i> und <i>Aspergillus fumigatus</i></li><li>- <i>Dermatophagoides farinae</i> (Hausstaubmilbe)</li><li>- <i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Hausstaubmilbe)</li><li>- Futtermilben (<i>Acarus siro</i>, <i>Tyrophagus putrescentia</i>)</li><li>- Federmischung (Gans, Ente, Huhn)</li></ul>

Zusammensetzung des Fcε-Rezeptor-Testes:

Vortest:	Milben, Pollen, Pilzsporen, Floh
Saisonale Allergene :	<ul style="list-style-type: none"><li>- Gräser-Mix</li><li>- Roggen (<i>Secale cereale</i>)</li><li>- Beifuß (<i>Artemisia vulgaris</i>)</li><li>- Spitzwegerich (<i>Plantago lanceolata</i>)</li><li>- Birke (<i>Betula populifolia</i>)</li><li>- Weide (<i>Salix caprea</i>)</li><li>- Brennessel (<i>Urtica dioica</i>)</li><li>- Sauerampfer (<i>Rumex acetosella</i>).</li></ul>

- Ganzjährige Allergene:
- *Alternaria alternata* und *Aspergillus fumigatus*
  - *Cladosporium herbarum* und *Penicillium notatum*
  - *Dermatophagoides farinae* (Hausstaubmilbe)
  - *Dermatophagoides pteronyssinus* (Hausstaubmilbe)
  - *Tyrophagus putrescentia* (Futtermilbe)
  - *Acarus siro* (Futtermilbe)

Der IgE-Test wurde bei allen Hunden durchgeführt. Bei den ersten vier Paaren kam der herkömmliche ELISA (monoklonaler AK-Test) zur Anwendung. Nach der Umstellung im Labor wurde bei den Paaren 5 bis 8 der Fcε-Rezeptor-Test genutzt. Aus diesem Grund variiert die Zusammensetzung der Allergene geringfügig. Die Umstellung auf den Fcε-Rezeptor-Test wurde vom Labor mit der möglicherweise höheren Empfindlichkeit begründet. Die Auswertung der Reaktionen erfolgt über die Messung der optischen Dichte des Farbumschlages bei positiven Reaktionen auf Allergene. Die Dichtebereiche sind danach in Reaktionsklassen unterteilt (siehe Erläuterungen Tab. 4.2 und 4.3). Die Grundlage für die Beurteilung der Reaktionsklassen in ihrer Bedeutung für die klinische Relevanz der positiven Reaktion auf ein Allergen bildeten Erfahrungen von Labor und Praktikern.

### 3.2 Gewinnung des Probenmaterials

Es wurden jedem Hund ca. 9 ml Blut entnommen (9 ml Heparinröhrchen, Firma Heiland, Hamburg). Zur Entnahme diente die Punktion der Vena cephalica antebrachii mit einer Kanüle von 1,0 mm Durchmesser (Firma Heiland, Hamburg). Der Transport der Proben zum Labor erfolgte gekühlt. Die Proben wurden innerhalb von zwei Stunden nach der Probenentnahme weiterverarbeitet.

### 3.3 Aufarbeitung des Probenmaterials und Bestimmung der ausgewählten Parameter

#### 3.3.1 Präparation der Erythrozytenmembranen

Die Präparation der Erythrozytenmembranen erfolgte nach einer modifizierten Methode von PEKINER und PENNOCK (1995).

Die Blutproben wurden 5 min bei 1000 x g und 4°C zentrifugiert, das Plasma abgesaugt und bei -80°C für weitere Untersuchungen aufbewahrt. Es folgte ein dreimaliges Waschen der Erythrozyten mit eisgekühlter 0,89%iger Kochsalzlösung (Verhältnis 1:5, pH 7,4). Nach jedem Waschvorgang erfolgte eine Zentrifugation bei 1000 x g und 4°C für 5 min und das Absaugen der Waschlösung. Nach dem ersten Waschvorgang wurde auf ein vollständiges Entfernen der Leukozyten-, Monozyten- und Lymphozytenschicht geachtet.

In einem weiteren Waschgang erfolgte die Lyse der Erythrozyten mit einem Phosphatpuffer (5 mM, versetzt mit 5 mM Ascorbinsäure, pH 8,0) im Verhältnis 1:5. Nach der folgenden Zentrifugation bei 20000 x g und 4°C für 20 min und dem Absaugen des Überstandes wurde

der Vorgang mit einer absteigenden Phosphatpufferreihe (2,5 und 1,25 mM, versetzt mit 5 mM Ascorbinsäure, pH 8,0) wiederholt.

Das feuchte Pellet wurde unter Stickstoffstrom bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und bei -80°C bis zur weiteren Bearbeitung gelagert.

### 3.3.2 Lipidextraktion

Die Lipidextraktion erfolgte nach einer Methode von EDER et al. (1992). Das bei Zimmertemperatur aufgetaute Ghost-Pellet wurde mit 7 ml eines Chloroform/Methanol - Gemisches (1:1) versetzt, mit Ultraschall (10 x 15 sec) zerkleinert und danach 4 h bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zwischendurch wurden die Proben für 1 h geschüttelt. Danach folgte die Filtration mittels eines Papierfilters, Trocknung unter Stickstoffstrom, sowie eine Gewichtsbestimmung des Rückstandes und wiederum eine Lagerung bei -80°C.

### 3.3.3 Dünnschichtchromatographie

Mittels einer präparativen Platte erfolgte die Trennung und Gewinnung der einzelnen Lipidfraktionen:

Sphingomyelin (SM)  
Phosphatidylcholin (PC)  
Phosphatidylserin (PS)  
Phosphatidylethanolamin (PE)  
Cholesterol (CH).

Hierbei wurden 2,5 mg des in Chloroform/Methanol 1:1 gelösten Lipidextraktes auf eine präparative Platte (0.5 mm Kieselgel – 60 F<sub>254</sub> - , Maße 10 x 10 cm, aus 20 x 20 cm Platten der Firma Merck gebrochen) linear aufgetragen. Es folgte die Entwicklung in einer horizontalen Trennkammer (siehe Abb. 3.1; Kammer: Fa. Camag, Schweiz; Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser/Essigsäure im Verhältnis 65:25:4:10). Die Kieselgelplatte wurde getrocknet, bis die Essigsäure verdampft war.

Die Lipidbanden wurden durch Besprühen mit einer Primulinlösung (2 mM, gelöst in 100 ml eines Aceton-Wasser-Gemisches im Verhältnis 80:20) und UV-Licht (320 nm, Gene Genius, Firma SYNGENE, USA) sichtbar gemacht (siehe Abb. 3.2).



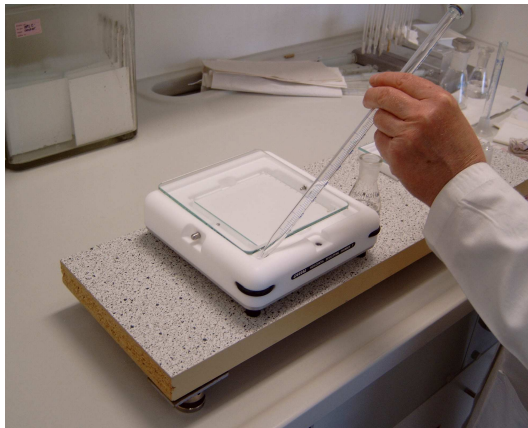


Abb. 3.1:

Befüllen einer horizontalen Camag-Kammer mit Laufmittel

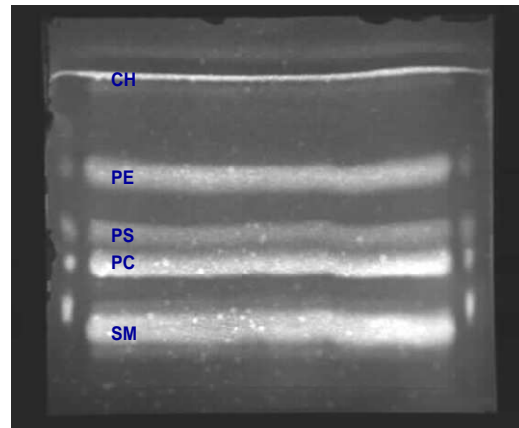


Abb. 3.2:

Mit Primulin und UV-Licht detektierte Lipidbanden einer präparativen Platte; SM = Sphingomyelin, PC = Phosphatidylcholin, PS = Phosphatidylserin, PE = Phosphatidylethanolamin, CH = Cholesterol

Nach dem sorgfältigen Herauskrazten der einzelnen Banden erfolgte die Elution aus dem Kieselgel. Hierzu kam eine Glassäule zum Einsatz, in der sich das Kieselgel auf einem Filter aus gepresster Glaswolle befand und mit 2 x 1,5 ml Lösungsmittel (Chloroform/Methanol im Verhältnis 1:1) übergossen wurde. Die Einengung des Filtrates erfolgte unter Stickstoffstrom. Die getrockneten Fraktionen wurden bis zur Weiterbearbeitung bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

#### 3.3.4 Densitometrie

Für die densitometrische Bestimmung der Phospholipide und des Sphingomyelins wurden 1mg Lipid in 500  $\mu\text{l}$  Lösungsmittel (Chloroform/Methanol im Verhältnis 1:1) gelöst. Die Probenlösung für die Cholesterolbestimmung enthielt 1 mg Lipid in 1700  $\mu\text{l}$  Lösungsmittel (Chloroform/Methanol im Verhältnis 1:1).

Die Bestimmung der Phospholipide und des Cholesterols erfolgten getrennt, um die Auswertung durch die Anwendung unterschiedlicher Laufmittel zu optimieren.

Für die Erstellung einer Eichkurve wurde eine Standardmischung, bestehend aus je 0,1 mg Sphingomyelin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin und Phosphatidylethanolamin in 400  $\mu\text{l}$  Lösungsmittel (Chloroform/Methanol im Verhältnis 1:1) verwendet. Der Standard für die Cholesterolbestimmung enthielt 0,06 mg Cholesterol in 400  $\mu\text{l}$  Lösungsmittel (ebenfalls Chloroform/Methanol im Verhältnis 1:1).

### 3.3.4.1 Bestimmung der Phospholipide

Auf eine HPTLC-Platte (Kieselgel 60 - F<sub>254</sub> -, Maße 10 x 10 cm, Fa. Merck) wurden je 2, 3, 4 und 5 µl des Proben- und Standardgemisches aufgetragen. Diese wurde dann, wie auch die präparative Platte, in einer horizontalen Trennkammer entwickelt (Kammer: Fa. Camag, Schweiz; Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser/Essigsäure im Verhältnis 65:25:4:10) und solange getrocknet, bis die Essigsäure verdampft war.

Im Anschluss wurden die Banden durch Besprühen mit 10%-iger ethanolischer Molybdatophosphorsäure und Erhitzen der Platte für 4 – 6 min bei 120°C detektiert.

Die Dokumentation erfolgte mit dem GENE GENIUS BIO IMAGING SYSTEM der Firma SYNGENE und dem Programm Gene Snap und die Auswertung mit dem Programm Gene Tools. Anhand der vier Eichpunkte wurde für jede Lipidfraktion eine Eichkurve erstellt. Aus den bestimmten Probenpunkten erfolgte die Berechnung eines Mittelwertes für die Konzentration der jeweiligen Fraktion je µl Lösungsmittel. Ausgewertet wurden die prozentualen Anteile der Fraktionen.

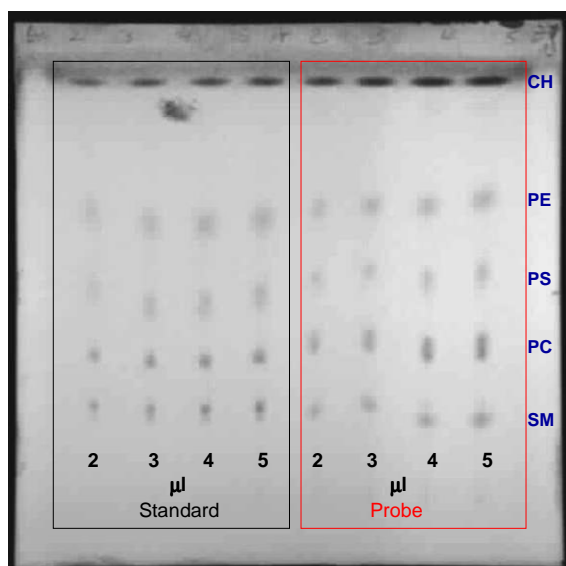


Abb. 3.3:

HPTLC-Platte mit detektierten Standard- und Probenpunkten der Phospholipide; SM = Sphingomyelin, PC = Phosphatidylcholin, PS = Phosphatidylserin, PE = Phosphatidylethanolamin, CH = Cholesterol

### 3.3.4.2 Bestimmung des Cholesterols

Es wurden je 2 und 4 µl des Proben- und Standardgemisches auf eine HPTLC-Platte (Kieselgel 60 - F<sub>254</sub> -, Maße 5 x 5 cm, gebrochen aus 10 x 10 cm Platten der Fa. Merck) aufgetragen. Für die Entwicklung kam eine horizontale Trennkammer zur Anwendung (Kammer: Fa. DESAGA, Deutschland; Laufmittel: Chloroform/Hexan/Methanol im Verhältnis 48:48:4).

Die Detektion, Aufnahme und Auswertung wurde wie bei Punkt 3.3.4.1. durchgeführt. Die Bildung der Eichkurve erfolgte hier aus zwei Eichpunkten und der Mittelwert für die Konzentration der jeweiligen Fraktion wurde aus zwei Probenpunkten berechnet.

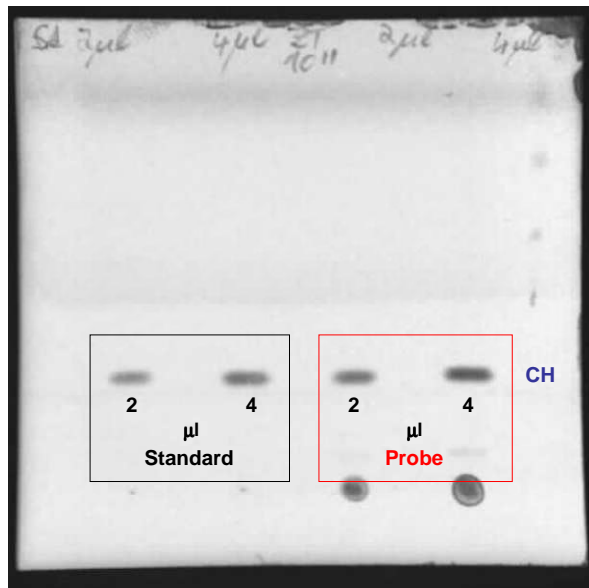


Abb. 3.4:

HPTLC-Platte mit detektierten  
Standard- und Probenpunkten  
des Cholesterols;  
CH = Cholesterol

### 3.3.5 Fettsäurenbestimmung

#### 3.3.5.1 Probenvorbereitung

Die Proben wurden nach der Methode von SÖNNICHSEN und MÜLLER (1999) bearbeitet.

Die getrockneten Fraktionen bzw. 100 µl Plasma (gefriergetrocknet) wurden mit 500 µl methanolischer Salzsäure zur Umesterung, 250 µl n-Hexan zur Extraktion sowie 500 µl Internem Standard (IS) versetzt und mit einem Rührstab 10 sec gerührt. Der verwendete IS bestand aus 0,8 mg L- $\alpha$ -Phosphatidylcholin-C17:0 gelöst in 1 ml Methanol mit 0,2% Butylhydroxytoluol (BHT) als Antioxidans.

Der Veresterungsprozess erfolgte für 30 min im Wasserbad bei 80°C unter Verwendung von Glasröhrchen (Wheaton-Kultur-Röhrchen; Fa. Th. Geyer, Berlin) und Schraubkappen mit teflonbeschichteten Dichtungen (Fa. Th. Geyer, Berlin).

Nach dem Abkühlen der Proben bei Raumtemperatur wurden nochmals 500 µl n-Hexan und 1 ml Aqua bidest. zugegeben. Die Proben wurden 1 min geschüttelt und anschließend 10 min bei 3000 x g und 15°C zentrifugiert. Von der dabei gebildeten oberen Phase (Hexan) wurden 500 µl abpipettiert, in Eppendorfgefäße überführt und unter Stickstoff eingengt.

Die Fettsäuremethylester (FAME) wurden danach in 60 µl n-Hexan aufgenommen, 10 sec geschüttelt und in Gaschromatographie(GC)-Messröhrchen überführt.

Die Messröhrchen wurden mit Schraubkappen und teflonbeschichteten Dichtungen fest verschlossen und bis zur Messung bei -25°C aufbewahrt.

#### 3.3.5.2 Gaschromatographie

Die Bestimmung der FAME wurde, wie bei SEIDEL (2004) beschrieben, durchgeführt. Mit der Gaschromatographie erfolgte die quantitative Bestimmung der FAME unter folgenden Bedingungen:

Säule:	Omegawax TM 320 (30 m x 0,32 mm Durchmesser x 0,25 µm Film)
Injektion:	250°C, 1 µl Probe im „Sandwich“-Verfahren (Luft-Probe-Luft), Splitverhältnis initial: 1:50, nach 1 min 1:100, nach 30 min 1:3
Trärgas:	Helium, 1,5 ml/min
Ofentemperatur	200°C
Detektion:	Flammenionisationsdetektor (FID), 250°C
	Make up-Gas: Stickstoff

Die Aufzeichnung und Auswertung der Chromatogramme erfolgte mit dem Programm Star 5.0 von VARIAN unter Nutzung des IS (C17:0) als Referenzpeak.

Zur Identifizierung und Quantifizierung der einzelnen Fettsäuren wurden der FIM-FAME-6-Mix, der Omegawax Column test mix und die Einzelsubstanzen C20:4n6, C20:5n3 und C22:5n3 in Form ihrer Methylester als Standards verwendet.

Anhand von Kalibrierkurven konnten für die FAME Responsefaktoren (RF) ermittelt werden, mit denen dann eine Berechnung der Konzentration an FAME aus der Probe möglich war.

Über das Computerprogramm wurde aus der Peakfläche die Konzentration der FAME pro Probe unter Zuhilfenahme der Konzentration des IS und der RF errechnet. Von diesen ermittelten Konzentrationen wurden einige FAMEs um den Blindwert korrigiert.

Ursachen für die Blindwerte waren einerseits das Kieselgel, da einige Fettsäuren hieraus eluiert wurden, sowie nicht vermeidbare Verunreinigungen aus dem IS, den Lösungsmitteln und den Veresterungsreagenzien. Die Ermittlung der Blindwerte erfolgte durch eine Vierfachbestimmung, bei der vier präparative Platten ohne das Auftragen der Phospholipide entwickelt, die entsprechende Kieselgelmenge, in der sich sonst die einzelnen Phospholipidfraktionen befanden ausgekratzt, eluiert und das getrocknete Filtrat wie die Fraktionen vorbereitet und gaschromatographisch untersucht wurde. Die somit ermittelten Blindwerte und daraus errechneten Mittelwerte für C16:0, C16:1n7, C18:0, C18:1n9, C18:2n6, C18:3n6, C20:0, C20:2n6, C20:4n3, C22:2n6 und C24:0 sind im Anhang in Tabelle 10.16 dargestellt.

### 3.3.6 Rechnerische Bestimmung der Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen

Die rechnerische Bestimmung der Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen erfolgte durch die Bildung der Summe der gaschromatographisch bestimmten Mengen der einzelnen Fettsäuren der jeweiligen Lipidfraktion.

### 3.3.7 Bestimmung des Vitamin E-Gehaltes im Plasma

#### 3.3.7.1 Vorbereitung der Proben

Jeweils 100 µl Plasma wurden mit 100 µl 0,1 M Phosphatpuffer (pH 7,2) und 10 µl BHT versetzt und 10 sec geschüttelt. Nach einer weiteren Zugabe von 350 µl Ethanol erfolgte das Ausschütteln der Proben für 10 sec.

Der Zuführung von 50 µl internen Standards (Tocopherolacetat: 62,5 µg/ml Ethanol) folgte ein weiteres Schütteln der Proben für 10 sec. Durch Versetzen des Gemisches mit 400 µl Hexan und das Schütteln von 60 sec wurde das Vitamin E extrahiert.

Nach der Zentrifugation (5 min bei 15000 x g) wurden 300 µl der Hexanphase mittels einer Hamilton-Spritze abgenommen, unter Stickstoff eingeeengt und in 250 µl 100%-igem Methanol aufgenommen. Das so entstandene Gemisch wurde nochmals für 60 sec geschüttelt.

#### 3.3.7.2 Messung des Vitamin E mittels HPLC

Die Messung erfolgte wie in GUECK et al. (2002) beschrieben.

Die Auftrennung der Probe wurde auf einer Reversed-Phase-Säule der Firma Varian-Chrompack (Darmstadt) unter Verwendung einer HPLC-Anlage der Firma Knauer (Berlin) durchgeführt. Die anschließende Detektion erfolgte mit einem Fluoreszenzdetektor.

Folgende HPLC-Bedingungen wurden gewählt:

Säule:	RP OSD-3,5 µm, 250 x 4,6
Eluent:	95% Methanol / 5% Wasser
Temperatur:	40°C
Probenvolumen:	50 µl

Die erreichten Retentionszeiten lagen bei 21 min für  $\alpha$ -Tocopherol und 30 min für Tocopherolacetat. Ausgewertet wurden die Proben mit der Software „Chromgate“ der Firma Knauer nach der Methode des Internen Standards (IS: Tocopherolacetat, Firma Fluka). Für die Erstellung der Eichkurven wurde der Serumkalibrator „ClinCal“ der Firma RECIPE (München) verwendet.

### 3.3.8 Cholesterol- und Triacylglycerinbestimmung im Plasma

Die Bestimmung des Cholesterols und der Triacylglycerine im Plasma wurde nach der vollenzymatischen Methode, beschrieben von ROESCHLAU et al. (1974), durchgeführt.

Als Analysengerät diente der Hitachi 912 Automatic Analyzer der Firma Roche Diagnostics GmbH, Mannheim.

Testprinzip: Enzymatischer Farbstest

Reagenzien: Cholesterin- bzw. Triacylglycerinreagenz, Fa. Roche Diagnostics GmbH,  
Mannheim

Messtemperatur: 37°C

Messbereich für Cholesterol: 3 bis 800 mg/dl bzw. 0,08 bis 20,7 mmol/l

Messbereich für Triglyceride: 4 bis 1000 mg/dl bzw. 0,05 bis 11,4 mmol/l

Die Bestimmung erfolgte im Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät in Leipzig.

### **3.4 Statistische Verfahren**

Die Berechnung der Mittelwerte und der Standardabweichung erfolgte mit dem Programm Microsoft Excel. Für die weitere statistische Auswertung wurde das Programm SigmaStat 3.11 der Firma JANDEL genutzt. Die Analyse auf Normalverteilung wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt. Waren die Werte normal verteilt, erfolgte ein gepaarter t-Test, bei dem die Differenz zwischen den Werten der atopischen und der gesunde Hunde auf signifikante Unterschiede zu Null geprüft wurde. Weiterhin wurde das 95%ige Konfidenzintervall der Mittelwertdifferenz bestimmt.

Wenn keine Normalverteilung der Werte vorlag, erfolgte die Prüfung der Signifikanz mit dem Wilcoxon Signed Rank Test. Desweiteren wurde die Differenz der Mittelwerte ermittelt.

Bei der densitometrischen Bestimmung der Lipidfraktionen erfolgte bei SM, PC, PS und PE die Bestimmung des Mittelwertes der vier, bei CH der zwei Probenpunkte. Die errechneten Werte wurden dann wie oben beschrieben ausgewertet.

Ein signifikanter Unterschied wurde angenommen, wenn  $P < 0,05$  ermittelt wurde.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Atopietests

Es wurden bei den atopischen Hunden ein Intrakutantest und ein IgE-Test durchgeführt. Die Bereitschaft der Besitzer, auch bei den gesunden Hunden einen Intrakutantest durchzuführen, war sehr gering. Aus diesem Grund wurde bei den gesunden Hunden nur der IgE-Test angewendet.

Die Hunde, die an CAD erkrankt waren, zeigten Übereinstimmungen in der Allergenreaktion zwischen dem Intrakutan- und dem IgE-Test. So waren positive Reaktionen auf bestimmte Allergene des Intrakutantestes der jeweiligen Tiere auch im IgE-Test festzustellen (siehe Tab. 4.1, 4.2 und 4.3).

Bei den gesunden Hunden gab es bei sieben von acht Tieren, trotz fehlender klinischer Anzeichen einer atopischen Erkrankung, positive Reaktionen im IgE-Test (siehe Tab. 4.3).

#### 4.1.1 Intrakutantest

Die häufigsten und stärksten Reaktionen verursachten die asaisonale Allergene der Futtermilben (*Tyrophagus putrescentie*, *Acarus siro*) und der Mehlmilbe (*Dermatophagoides farinae*). Die saisonalen Allergene (Gräserpollen-, Baumpollen- und Kräuterpollenmischung) lösten seltener und weniger intensiv positive Reaktionen aus. Nur wenige Ergebnisse mit der Wertung von 1+ waren bei den asaisonalen Allergenen von Heumilbe (*Glycophagus destructor*), Hausstaub, Schafswolle, Floh und Katzenepithelien zu finden (siehe Tab. 4.1).

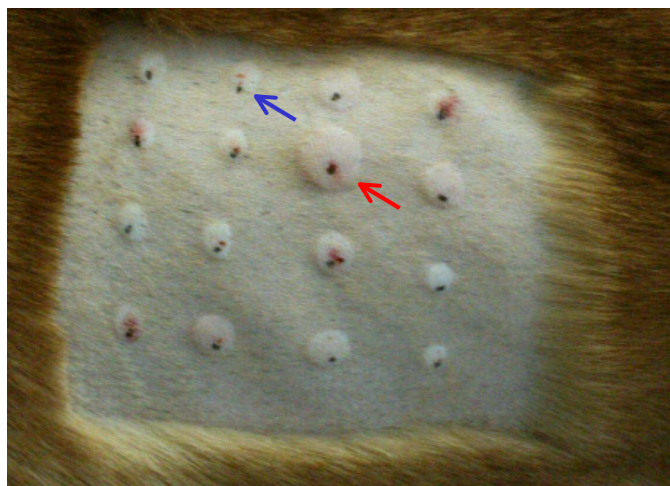


Abb. 4.1: Intrakutantest am seitlichen Thorax, Aufnahme 15 min nach intradermaler Applikation des letzten Allergens; Die schwarzen Punkte kennzeichnen die jeweiligen Injektionsstellen, der rote Pfeil die Positiv- und der blaue Pfeil die Negativkontrolle

Tab. 4.1: Ergebnisse des Intrakutantestes der Atopischen Hunde, Beurteilung der Quaddelbildung; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Atopikers, (A) = Atopischer Hund

Tier-Nr.	1(A)	2(A)	3(A)	4(A)	5(A)	6(A)	7(A)	8(A)
Gräserpollen-mischung	neg.	+	+	neg.	neg.	++	++	neg.
Baumpollen-mischung	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	++
Kräuterpollen-mischung	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	++	neg.	neg.
<i>Dermatophagoides farinae</i> (Mehlmilbe)	++	++	++	++	+++	+++	neg.	neg.
<i>Tyrophagus putrescentia</i> (Speisemilbe1)	++	neg.	++	neg.	+	++	neg.	neg.
<i>Acarus siro</i> (Speisemilbe2)	++	+++	++	neg.	+	+++	++	++
<i>Glycophagus destructor</i> (Heumilbe)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.
Haustaub	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	+
Schafswolle	neg.	neg.	neg.	+	neg.	neg.	neg.	+
<i>Ctenocephalides</i> (Floh)	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	+
Katzenepithelien	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

#### 4.1.2 IgE-Tests

Auch beim IgE-Test waren die häufigsten und stärksten Reaktionen bei den assaisonalen Allergenen zu finden (*Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Acarus siro*, *Tyrophagus putrescentia*). Reaktionen auf saisonale Allergene traten nur vereinzelt und wesentlich schwächer auf.



Tab. 4.2: IgE-Bestimmung für Antigene und Antigengruppen in Reaktionsklassen (RK) 0 bis 5 der Paare 1 bis 4 mit dem monoklonalen AK-Test; (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

Tier-Nr.	1(A)	1(G)	2(A)	2(G)	3(A)	3(G)	4(A)	4(G)
<b>Allergievor-test</b>								
Pollen	n.b.	2	0	0	n.b.	n.b.	1	1
Schimmelpilze	n.b.	1	1	0	n.b.	n.b.	1	1
Milben	n.b.	5	5	2	n.b.	n.b.	3	4
Futtermittel	n.b.	0	0	1	n.b.	n.b.	1	1
Flohspeichel	n.b.	2	2	0	n.b.	n.b.	1	1
<b>Saisonale Allergene</b>								
Lolch, Ruchgras, Roggen, Honiggras	0	1	0	0	2	3	1	1
Beifuß, Spitzwegerich, Weißer Gänsefuß	2	1	0	0	2	2	1	2
Goldrute, Brennessel, Löwenzahn	1	2	0	0	1	2	1	2
Erle, Haselnuß, Birke, Buche	0	0	0	0	1	2	1	2
Saalweide I + II, Pappel I + II, Liguster	4	0	0	1	3	2	1	2
<b>Ganzjährige Allergene</b>								
<i>Penicillium notatum</i> , <i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Rhizopus nigricans</i>	3	1	0	1	3	2	1	1
<i>Alternaria alternata</i> und <i>Aspergillus fumigatus</i>	1	0	0	0	0	1	1	1
<i>Dermatophagoides farinae</i> (Hausstaubmilbe)	5	3	3	2	4	5	3	4
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Hausstaubmilbe)	5	3	5	0	4	4	1	2
Futtermilben ( <i>Acarus siro</i> , <i>Tyrophagus putrescentia</i> )	5	5	4	2	4	5	1	4
Federmischung (Gans, Ente, Huhn)	0	0	1	1	0	1	1	1

n.b. nicht bestimmt  
 RK 0 Es wurden keine allergenspezifischen IgE-Antikörper nachgewiesen  
 RK 1-2 IgE-Antikörper in niedriger Konzentration ohne nachgewiesene klinische Relevanz  
 RK 3 Bei Pollen und Futtermitteln mittlere klinische Relevanz, klinische Relevanz bei Milben und Pilzsporen fraglich  
 RK 4-5 Allergenspezifische Antikörper in hoher Konzentration, insbesondere bei Pollen und Futtermitteln

Tab. 4.3: IgE-Bestimmung für Antigene und Antigengruppen in Reaktionsklassen (RK)  
 0 bis 5 der Paare 5 bis 8 mit dem Fcε-Rezeptor Test  
 (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

Tier-Nr.	5(A)	5(G)	6(A)	6(G)	7(A)	7(G)	8(A)	8(G)	
<b>Allergievortest</b>									
Milben	4	3	3	5	4	2	5	0	
Pollen	0	0	0	0	3	0	5	0	
Pilzsporen	0	2	0	0	4	2	0	0	
Floh	0	2	0	0	4	0	5	0	
<b>Saisonale Allergene</b>									
Gräser-Mix	0	0	0	0	2	0	4	0	
Roggen ( <i>Secale cereale</i> )	0	0	0	0	2	0	4	0	
Beifuß ( <i>Artemisia vulgaris</i> )	0	0	0	0	2	0	0	0	
Spitzwegerich ( <i>Plantago lanceolata</i> )	0	0	0	0	2	0	3	0	
Birke ( <i>Betula populifolia</i> )	0	0	0	0	1	0	1	0	
Weide ( <i>Salix caprea</i> )	0	0	0	0	2	0	0	0	
Brennessel ( <i>Urtica dioica</i> )	0	0	0	0	0	0	0	0	
Sauerampfer ( <i>Rumex acetosella</i> )	0	0	0	0	2	0	3	0	
<b>Ganzjährige Allergene</b>									
<i>Alternaria alternata</i> und <i>Aspergillus fumigatus</i>	0	3	0	0	3	2	0	0	
<i>Cladosporium herbarum</i> und <i>Penicillium notatum</i>	0	3	0	0	4	2	0	0	
<i>Dermatophagoides farinae</i> (Hausstaubmilbe)	5	3	4	5	5	2	5	0	
<i>Dermatophagoides pteronyssinus</i> (Hausstaubmilbe)	2	3	2	1	4	2	5	0	
<i>Tyrophagus putrescentia</i> (Futtermilbe)	4	3	3	5	5	2	5	0	
<i>Acarus siro</i> (Futtermilbe)	4	3	5	5	5	2	5	0	

RK 0 Es wurden keine allergenspezifischen IgE-Antikörper nachgewiesen

RK 1-2 IgE-Antikörper in niedriger Konzentration ohne nachgewiesene klinische Relevanz

RK 3 Bei Pollen und Futtermitteln mittlere klinische Relevanz, klinische Relevanz bei Milben und Pilzsporen fraglich

RK 4-5 Allergenspezifische Antikörper in hoher Konzentration, insbesondere bei Pollen und Futtermitteln

Bei den saisonalen Allergenen wurden alle Reaktionsklassen gleich und größer 2 als positiv bewertet. Alle Reaktionsklasse gleich und größer 3 entsprachen bei den asaisonalen Allergenen einem positiven Ergebnis.

## 4.2 Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen und Fettsäuremuster der einzelnen Lipidfraktionen

Die Ergebnisse für jede Fettsäure, die bei den einzelnen Hunden gemessen wurde, befinden sich im Anhang (siehe Tab. 10.1 bis 10.6).

### 4.2.1 Gehalt der n6- und n3-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen

Es ergaben sich signifikante Unterschiede im Gehalt der n6-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen. Während die C18:3n6 (GLA) und die C20:4n6 (AA) bei den Atopikern niedrigere Gehalte aufwiesen, war die C20:3n6 (DGLA) erhöht (siehe Tab. 4.4).

Tab. 4.4: Gehalt der gemessenen n6-Fettsäuren in Gew.% FAME der Fettsäuren der Erythrozytenmembranen; 1 bis 8 = Nummer der einzelnen Paare, A = Atopiker, G = Gesunder Hund, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant

Paar	C18:2n6		C18:3n6		C20:3n6		C20:4n6		C22:4n6	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	11,48	10,23	0,097	0,127	2,24	1,71	23,40	25,59	1,81	2,52
2	8,50	8,74	0,058	0,084	2,10	2,03	26,75	28,72	1,18	1,23
3	14,13	10,79	0,12	0,13	1,64	1,28	24,08	29,11	1,27	2,60
4	9,87	9,92	0,12	0,16	2,09	1,52	21,92	26,97	1,44	1,27
5	11,30	10,77	0,10	0,09	2,40	1,66	25,30	29,19	2,06	1,41
6	12,04	12,33	0,12	0,13	2,25	1,60	25,83	25,14	1,53	2,11
7	12,67	9,09	0,10	0,09	1,86	1,17	23,91	30,40	2,30	2,00
8	10,42	9,13	0,13	0,19	1,30	1,44	26,91	29,27	1,50	2,62
MW	11,30	10,13	0,10	0,12	1,98	1,55	24,76	28,05	1,64	1,97
SD	1,74	1,18	0,02	0,04	0,37	0,27	1,74	1,91	0,39	0,60
MD	1,18		-0,02		0,43		-3,29		-0,33	
95% C.I.	-0,11 bis 2,46		-0,04 bis -0,0005		0,17 bis 0,69		-5,21 bis -1,42		-0,93 bis 0,26	
Signifikanz	n.s.		P = 0,046		P = 0,006		P = 0,005		n.s.	

Bei den n3-Fettsäuren war nur bei der C22:5n3 (DPA) ein signifikanter Unterschied zwischen den atopischen und den gesunden Hunden zu finden. Der Gehalt dieser Fettsäure in den Erythrozytenmembranen war bei den Atopikern niedriger (siehe Tab. 4.5).

Tab. 4.5: Gehalt der gemessenen n3-Fettsäuren in Gew.% FAME in den Erythrozytenmembranen; 1 bis 8 = Nummer der einzelnen Paare, A = Atopiker, G = Gesunder Hund, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant

Paar	C18:3n3		C20:5n3		C22:5n3		C22:6n3	
	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,06	0,12	0,52	0,233	0,73	1,02	0,69	0,46
2	0,03	0,08	0,665	0,589	0,38	0,48	1,33	1,38
3	0,17	0,11	0,42	0,12	0,82	1,22	0,31	0,28
4	0,12	0,17	0,55	0,80	0,72	1,18	0,62	0,67
5	0,15	0,09	0,38	0,40	0,68	0,61	0,27	0,47
6	0,15	0,12	0,32	0,23	0,59	0,65	0,33	0,15
7	0,10	0,16	0,39	0,39	0,57	0,83	0,43	0,39
8	0,10	0,09	0,25	0,17	0,53	1,04	0,47	0,42
MW	0,11	0,12	0,44	0,36	0,63	0,88	0,56	0,53
SD	0,05	0,03	0,14	0,23	0,14	0,28	0,35	0,38
MD	-0,01		0,07		-0,25		0,03	
95% C.I.	-0,05 bis 0,04		-0,07 bis 0,22		-0,43 bis -0,08		-0,08 bis 0,15	
Signifikanz	n.s.		n.s.		P=0,010		n.s.	

#### 4.2.2 Summe der n6- und n3-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen und Verhältnis der beiden Fettsäurenfamilien zueinander

Tab. 4.6: Summe der n6- und der n3-Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen, Verhältnis der beiden Fettsäurefamilien zueinander, Angabe des MW  $\pm$  SD; MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant

	Summe n6-Fettsäuren in Gew.% FAME	Summe n3-Fettsäuren in Gew.% FAME	Verhältnis der n6- zu den n3-Fettsäuren
Atopische Hunde MW $\pm$ SD	40,19 $\pm$ 2,04	1,64 $\pm$ 0,39	24,27 $\pm$ 5,66
Gesunde Hunde MW $\pm$ SD	42,31 $\pm$ 1,45	1,87 $\pm$ 0,55	24,42 $\pm$ 7,66
MD	-2,11	-0,23	-0,15
95% C.I.	-3,22 bis -1,00	-0,53 bis 0,06	-3,88 bis 3,28
Signifikanz	P = 0,003	n.s.	n.s.

Die Summe der n6-Fettsäuren in den EM der erkrankten Hunde war signifikant niedriger ( $P = 0,003$ ) als die der gesunden Hunde.

Kein signifikanter Unterschied war in der Summe der n3-Fettsäuren im Vergleich der beiden Gruppen (an Atopie erkrankte und gesunde Hunde) zu finden ( $P = 0,102$ ). Es ist jedoch ein niedrigerer Gehalt der n3-Fettsäuren der atopischen Gruppe tendenziell erkennbar.

Im Verhältnis der beiden Fettsäurefamilien zueinander war ebenfalls kein signifikanter Unterschied zu verzeichnen (siehe Tab. 4.6).

#### 4.2.3 Gehalt der n6- und n3-Fettsäuren in den Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen

Die meisten Veränderungen der Fettsäuregehalte innerhalb der Lipidfraktionen zeigten sich beim Phosphatidylcholin. Während bei den n6-Fettsäuren bei der LA, der GLA, der DGLA, der AA und der Adrensäure innerhalb einzelner Fraktionen signifikante Unterschiede zwischen den atopischen und den gesunden Hunden auftraten, war bei den n3-Fettsäuren lediglich ein signifikant niedrigerer Gehalt der DPA ( $P = 0,010$ ) in der Phosphatidylcholinfraktion der atopischen Hunde vorhanden (siehe Tab. 4.7 bis Tab. 4.11).

##### 4.2.3.1 Gehalt der n6-Fettsäuren in den Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen

Tab. 4.7: Prozentualer Anteil der Linolsäure (LA, C18:2n6) am Gesamtgehalt der Fettsäuren innerhalb der bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen in Gew.% FAME

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,17	0,07	21,85	20,20	2,01	2,04	4,10	3,50	2,38	3,30
2	0,00	0,15	20,12	19,70	1,93	1,57	3,44	3,37	0,91	1,25
3	0,24	1,23	23,87	19,27	1,58	1,62	4,99	3,65	3,45	2,62
4	0,74	0,72	19,66	20,20	2,04	1,37	3,73	3,25	2,88	2,60
5	0,14	0,50	21,01	19,97	1,94	0,96	4,27	2,83	2,61	2,27
6	0,63	0,18	24,93	24,13	1,98	1,71	4,40	4,03	3,92	2,26
7	0,47	0,87	23,57	19,24	1,79	2,63	3,91	3,34	2,41	5,31
8	1,63	0,30	19,47	16,41	1,21	1,80	3,10	4,44	2,41	2,46
MW	0,50	0,50	21,81	19,89	1,81	1,71	3,99	3,55	2,62	2,76
SD	0,52	0,41	2,09	2,11	0,28	0,49	0,59	0,50	0,89	1,18
MD	0,00		1,92		0,10		0,44		-0,14	
95% C.I.	-0,57 bis 0,57		0,35 bis 3,49		-0,41 bis 0,61		-0,28 bis 1,16		-1,27 bis 0,99	
Signifikanz	n.s.		P=0,023		n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 4.7 bis Tab. 4.11: SM = Sphingomyelin, PC = Phosphatidylcholin, PS = Phosphatidyl-serin, PE = Phosphatidylethanolamin, CH = Cholesterol,  
 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. Konfidenzintervall von MD, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.s. = nicht signifikant, k. NV. = keine Normalverteilung, u.N. = unter der Nachweisgrenze

Tab. 4.8: Prozentualer Anteil der Gammalinolensäure (GLA, C18:3n6) am Gesamtgehalt der Fettsäuren innerhalb der bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen in Gew.% FAME

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,03	0,12	0,14	0,16	0,13	0,22	0,07	0,09	0,40	0,39
2	0,02	0,21	0,09	0,09	0,11	0,12	0,04	0,06	0,19	0,24
3	0,19	0,34	0,27	0,13	0,19	0,18	0,09	0,10	0,15	0,40
4	0,01	0,09	0,17	0,16	0,16	0,29	0,09	0,09	0,33	0,42
5	0,11	0,94	0,07	0,08	0,15	0,17	0,08	0,00	0,47	0,36
6	0,38	0,00	0,11	0,09	0,16	0,22	0,07	0,16	0,22	0,00
7	0,00	0,13	0,09	0,09	0,14	0,13	0,08	0,07	0,31	0,18
8	0,53	0,81	0,11	0,18	0,12	0,24	0,08	0,11	0,36	0,26
MW	0,16	0,33	0,11	0,11	0,15	0,20	0,07	0,08	0,30	0,28
SD	0,20	0,35	0,09	0,09	0,02	0,06	0,02	0,05	0,11	0,14
MD	-0,17		-0,02		-0,05		-0,01		0,02	
95% C.I.	-0,45 bis 0,104		k. NV.		-0,097 bis -0,003		-0,05 bis 0,03		-0,1 bis 0,15	
Signifikanz	n.s.		n.s.		P=0,040		n.s.		n.s.	

Tab. 4.9: Prozentualer Anteil der Dihomogammalinolensäure (DGLA, C20:3n6) am Gesamtgehalt der Fettsäuren innerhalb der bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen in Gew.% FAME

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	3,52	1,38	1,75	1,24	3,65	2,33	2,64	2,16	1,17	1,07
2	4,86	0,49	1,68	2,29	2,85	2,42	1,92	1,94	0,81	1,01
3	4,03	0,32	1,77	1,49	0,81	1,22	1,56	1,18	0,86	0,53
4	6,01	4,75	1,13	1,24	2,94	1,74	1,83	1,38	1,88	0,83
5	6,27	0,80	1,89	1,31	3,40	2,03	2,27	2,10	1,89	2,16
6	3,05	3,67	2,04	1,32	2,51	2,13	2,30	1,54	1,90	1,16
7	0,52	0,00	1,50	1,14	3,05	2,36	2,34	1,15	0,78	1,01
8	3,48	0,00	1,01	1,35	1,54	1,67	1,23	1,67	2,31	0,64
MW	3,97	1,43	1,55	1,42	2,59	1,99	2,01	1,64	1,45	1,05
SD	1,83	1,80	0,36	0,37	0,96	0,42	0,46	0,39	0,61	0,75
MD	2,54		0,17		0,61		0,37		0,40	
95% C.I.	0,81 bis 4,27		-0,23 bis 0,57		0,05 bis 1,17		-0,04 bis 0,78		-0,190 bis 0,983	
Signifikanz	P=0,010		n.s.		P=0,037		n.s.		n.s.	

Tab. 4.10: Prozentualer Anteil der Arachidonsäure (AA, C20:4n6) am Gesamtgehalt der Fettsäuren innerhalb der bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen in Gew.% FAME

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	1,01	1,05	11,51	13,97	39,33	42,13	36,34	37,71	10,11	10,75
2	0,00	6,75	7,05	11,29	39,83	45,00	41,34	43,59	10,19	10,60
3	0,34	1,23	11,98	18,88	47,37	45,73	39,65	42,43	12,56	16,69
4	0,00	0,00	10,60	13,97	40,20	43,87	37,25	41,52	14,27	19,78
5	0,00	0,00	9,67	15,02	48,11	46,63	39,09	47,31	16,18	24,78
6	0,51	0,00	11,72	12,43	41,83	43,46	40,16	37,79	23,08	19,57
7	0,00	3,28	13,33	17,70	42,26	41,22	38,54	44,93	14,72	18,49
8	0,64	0,00	14,86	20,35	44,40	43,11	41,00	39,34	22,25	18,70
MW	0,17	0,52	11,34	15,45	42,26	43,67	39,17	41,83	15,42	17,42
SD	0,38	2,39	2,35	3,20	3,18	1,82	1,75	3,44	4,95	4,76
MD	0,35		-4,11		-1,41		-2,66		-2,00	
95% C.I.	k.NV.		-5,73 bis -2,5		k. NV.		-5,71 bis 0,40		-5,59 bis 1,59	
Signifikanz	n.s.		P=0,001		n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 4.11: Prozentualer Anteil der Adrensäure (C22:4n6) am Gesamtgehalt der Fettsäuren innerhalb der bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen in Gew.% FAME

Paar	PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,559	1,138	1,75	2,35	3,77	4,92	u.N.	0,94
2	0,198	0,314	1,29	1,22	2,31	2,49	u.N.	u.N.
3	0,65	1,41	0,55	2,19	2,83	5,15	u.N.	1,59
4	0,32	0,44	1,38	1,28	3,71	2,77	0,87	u.N.
5	0,46	0,69	1,82	1,44	4,52	2,65	1,39	2,02
6	0,30	0,64	0,97	2,24	3,28	4,33	2,24	2,25
7	0,53	0,65	2,57	2,02	5,15	3,54	3,29	1,32
8	0,54	1,70	1,21	1,68	3,21	4,69	1,64	2,22
MW	0,45	0,87	1,44	1,80	3,60	3,82	1,89	1,72
SD	0,16	0,49	0,61	0,46	0,91	1,09	0,93	0,53
MD	-0,43		-0,36		-0,22		0,19	
95% C.I.	-0,74 bis -0,11		-1,01 bis 0,296		-1,505 bis 1,069		-1,752 bis 2,131	
Signifikanz	P=0,016		n.s.		n.s.		n.s.	

In der Phosphatidycholinfraktion waren somit die AA und die Adrensäure bei den an CAD erkrankten Tieren signifikant niedriger als bei den gesunden Hunden. Die LA zeigte in dieser Fraktion bei den Atopikern einen signifikant höheren Gehalt.

Die Phosphatidylserinfraktion wies einen signifikant niedrigeren Gehalt der GLA und einen signifikant höheren Gehalt der DGLA bei den Atopikern im Vergleich zu den gesunden Hunden auf.

Im Sphingomyelin war ebenfalls die DGLA bei den atopischen Hunden signifikant höher als bei den gesunden Tieren.

In der Phosphatidylethanolaminfraktion und im Cholesterol waren keine signifikanten Veränderungen der n6-Fettsäuren zu finden.

#### 4.2.3.2 Gehalt der n3-Fettsäuren in den Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen

Bei den Fettsäuren der n3-Familie konnte bei der Docosapentaensäure (DPA, C22:5n3) in der Phosphatidylcholinfraktion ein signifikanter Unterschied zwischen den erkrankten und gesunden Hunden gefunden werden. Bei den an Atopie erkrankten Hunden war der Gehalt der DPA signifikant niedriger (siehe Tab. 4.12).

Tab. 4.12: Prozentuale Anteile der gemessenen n3-Fettsäuren am Gesamtgehalt der Fettsäuren in der Phosphatidylcholinfraktion der Erythrozytenmembranen der atopischen und der gesunden Hunde in Gew.% FAME; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.s. = nicht signifikant, k. NV. = keine Normalverteilung

Paar	C18:3n3		C20:5n3		C22:5n3		C22:6n3	
	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,14	0,16	0,41	0,17	1,27	1,53	1,00	0,50
2	0,09	0,09	0,31	0,43	0,39	0,70	0,67	1,37
3	0,27	0,13	0,51	0,10	1,17	1,64	0,43	0,34
4	0,17	0,16	0,60	0,17	1,04	1,53	0,79	0,50
5	0,26	0,18	0,24	0,39	1,05	1,26	0,25	0,96
6	0,18	0,19	0,22	0,17	0,91	0,72	0,31	0,00
7	0,13	0,12	0,21	0,29	0,76	1,07	0,40	0,45
8	0,11	0,11	0,15	0,15	0,96	2,02	0,56	0,68
MW	0,17	0,14	0,33	0,23	0,94	1,31	0,55	0,60
SD	0,07	0,04	0,16	0,12	0,27	0,46	0,26	0,41
MD	0,03		0,10		-0,36		-0,05	
95% C.I.	k. NV.		-0,097 bis 0,29		-0,66 bis -0,07		-0,43 bis 0,32	
Signifikanz	n.s.		n.s.		0,023		n.s.	

In den anderen Fraktionen (SM, PS, PE und CH) konnte kein Unterschied im Gehalt der n3-Fettsäuren ermittelt werden (siehe Anhang Tab. 9.7 bis 9.9). Im Sphingomyelin wurden keine n3-Fettsäuren gemessen.



#### 4.2.4 Verhältnisse ausgewählter n6-Fettsäuren der Erythrozytenmembranen

Folgende Verhältnisse wurden zwischen ausgewählten n6-Fettsäuren gebildet:

Verhältnis der C20:4n6 (AA) zur C20:3n6 (DGLA)

Verhältnis der C20:4n6 (AA) zur C18:2n6 (LA)

Verhältnis der C18:2n6 (LA) zur C18:3n6 (GLA)

Die Verhältnisse dieser Fettsäuren zueinander wurden sowohl von den Gesamtgehalten der Fettsäuren der Erythrozytenmembranen als auch von den Fettsäuren in den einzelnen Lipidfraktionen gebildet. In bezug auf die Gesamtgehalte der Fettsäuren ergaben sich signifikante Veränderungen bei allen drei Verhältnissen. Die Verhältnisse AA/DGLA und AA/LA waren bei den atopischen Hunden im Vergleich zu den gesunden Hunden erniedrigt. Das Verhältnis LA/GLA war bei den atopischen Hunden erhöht (siehe Tab. 4.13).

Tab. 4.13: Verhältnisse der Fettsäuregehalte der LA, der GLA, der DGLA und der AA zueinander; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD

Paar	AA/DGLA		LA/GLA		AA/LA	
	A	G	A	G	A	G
1	10,43	14,93	117,9	80,47	2,04	2,50
2	12,75	14,12	289,24	104,32	3,15	3,29
3	14,72	22,70	122,47	85,08	1,70	2,70
4	10,50	17,76	79,51	63,49	2,22	2,72
5	10,56	17,55	117,21	102,71	2,24	2,71
6	11,51	16,15	99,28	97,71	2,14	2,04
7	12,87	26,00	130,86	97,69	1,89	3,34
8	20,71	20,34	80,44	48,58	2,59	3,21
MW	13,01	18,69	117,21	97,69	2,25	2,81
SD	3,45	4,07	72,48	20,07	0,45	0,45
MD	-5,69		25,82		-0,57	
95% C.I.	-9,19 bis -2,19		k. NV.		-0,97 bis -0,17	
Signifikanz	P = 0,006		P = 0,016		P = 0,012	

In den einzelnen Lipidfraktionen wurden im Phosphatidylcholin, im Phosphatidylethanolamin und im Cholesterol signifikante Unterschiede in den gebildeten Verhältnissen der dort gemessenen n6-Fettsäuren gefunden. Im Phosphatidylcholin waren die Verhältnisse AA/DGLA und AA/LA wie auch bei den Berechnungen aus den Gesamtfettsäuregehalten der Erythrozytenmembranen bei den Atopikern erniedrigt. Im Phosphatidylethanolamin war das Verhältnis der LA/GLA entsprechend dem Verhältnis aus den Gesamtfettsäuregehalten der Erythrozytenmembranen bei den kranken Hunden erhöht. Im Cholesterol wurde, wie im Gesamtfettsäuregehalt, ein signifikant niedrigeres Verhältnis der AA/DGLA bei den atopischen Hunden ermittelt.

Tab. 4.14: Signifikant unterschiedliche Verhältnisse zwischen der LA, der GLA, der DGLA und der AA in der Phosphatidylcholin(PC)-, der Phosphatidylethanolamin(PE)-fraktion und im Cholesterol (CH) in Gew.%; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.b. = nicht bestimmbar

Paar	AA/DGLA in PC		AA/DGLA in CH		AA/LA in PC		LA/GLA in PE	
	A	G	A	G	A	G	A	G
1	6,6	11,28	8,68	10,07	0,53	0,69	63,18	38,53
2	4,2	4,92	12,54	13,65	0,35	0,57	78,59	56,5
3	6,75	12,67	14,58	31,57	0,5	0,98	57,83	37,94
4	9,37	8,88	7,60	23,70	0,54	0,62	39,56	36,03
5	5,11	11,5	8,58	11,45	0,46	0,75	53,44	n.b.
6	5,76	9,42	12,15	16,86	0,47	0,51	66,41	24,62
7	8,93	15,59	18,96	18,34	0,57	0,92	51,28	47,25
8	14,76	15,09	9,63	29,21	0,76	1,23	38,22	42,15
MW	7,69	11,17	11,59	19,36	0,52	0,78	56,06	40,43
SD	3,36	3,48	3,81	8,05	0,12	0,24	13,57	9,89
MD	-3,48		-7,77		-0,26		20,69	
95% C.I.	-5,92 bis -1,05		-14,71 bis -0,82		-0,4 bis 0,12		4,22 bis 37,15	
Signifikanz	P = 0,012		P = 0,033		P = 0,003		P = 0,021	

Es fanden sich keine weiteren signifikanten Veränderungen hinsichtlich der Verhältnisse dieser Fettsäuren in den bestimmten Lipidfraktionen. Die gesamten Daten zu den errechneten Verhältnissen sind im Anhang Tab. 9.10 bis 9.12 dargestellt.

#### 4.3 Anteil der einzelnen Lipidfraktionen am Gesamtgehalt der bestimmten Membranlipide

Die Lipidfraktionen wurden densitometrisch und rechnerisch über die Bildung der Summe der absoluten Werte der bei der Gaschromatographie in den Fraktionen ermittelten Fettsäuren bestimmt. Ausgewertet wurde dann die prozentuale Verteilung der Lipidfraktionen.

Beim Vergleich der Lipidfraktionen der zwei Hundegruppen ist kein signifikanter Unterschied bezüglich der Fraktionen erkennbar (siehe Tab. 4.15 und Tab. 4.16).

Tab. 4.15: Densitometrisch ermittelte prozentuale Verteilung der bestimmten Fraktionen; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant; u.N. = unter der Nachweisgrenze

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	25,2	26,0	24,3	34,0	21,4	14,0	29,1	26,0	u.N.	u.N.
2	19,4	22,6	22,6	20,2	25,2	22,0	25,8	28,0	7,1	7,1
3	20,1	24,5	23,0	24,5	23,7	22,6	26,6	21,4	6,5	6,9
4	18,2	15,4	30,8	28,7	21,7	28,7	21,7	21,0	7,7	6,3
5	15,9	15,2	26,1	28,8	21,7	17,6	30,6	28,8	5,7	9,6
6	17,9	25,4	30,1	22,8	16,3	15,8	27,6	27,2	8,1	8,8
7	18,7	20,0	33,8	33,0	18,0	18,3	21,6	21,7	7,9	7,0
8	25,0	18,5	27,9	34,8	13,5	25,2	21,2	13,3	12,5	8,2
MW	20,1	21,0	27,3	28,4	20,2	20,5	25,5	23,4	7,9	7,7
SD	3,4	4,3	4,0	5,4	3,9	5,0	3,7	5,1	2,2	1,2
MD	-0,91		-1,05		-0,36		2,10		0,24	
95% C.I.	-4,55 bis 2,74		-5,59 bis 3,50		-5,53 bis 4,81		-0,58 bis 4,77		-2,05 bis 2,54	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 4.16: Rechnerisch ermittelte prozentuale Verteilung der bestimmten Fraktionen; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	3,4	4,2	44,2	42,6	12,6	16,0	35,5	32,8	4,3	4,4
2	3,0	5,2	33,9	36,4	24,3	27,6	34,5	36,4	4,5	4,3
3	3,0	3,2	51,5	48,4	10,9	14,9	30,9	29,3	3,7	4,2
4	9,1	3,0	42,1	44,0	15,5	19,7	18,2	29,7	5,1	3,6
5	3,4	3,2	45,1	48,5	14,8	14,7	34,5	29,8	2,2	3,8
6	5,8	3,6	40,0	44,6	13,8	18,4	35,2	27,8	5,2	5,7
7	5,7	5,9	47,1	36,6	11,9	8,3	31,1	42,2	4,2	6,9
8	4,2	2,8	47,3	44,5	13,9	15,6	31,3	31,7	3,3	5,4
MW	4,7	3,9	43,9	43,2	14,7	16,9	31,5	32,5	4,1	4,8
SD	2,1	1,1	5,3	4,6	4,1	5,5	5,7	4,7	1,0	1,1
MD	0,84		0,71		-2,21		-0,99		-0,73	
95% C.I.	-1,28 bis 2,95		-3,41 bis 4,82		-4,56 bis 0,14		-6,81 bis 4,83		-1,85 bis 0,38	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.		n.s.	

#### 4.4 Fettsäuregehalte im Plasma

Im Plasma wurde ebenfalls der Gehalt der Fettsäuren bestimmt. Hier konnten nur wenige signifikante Unterschiede zwischen den beiden Hundegruppen gefunden werden. Der prozentuale Anteil der DGLA und der Octadecatetraensäure (C18:4n3) am Gesamtgehalt der im Plasma gemessenen Fettsäuren war bei den atopischen Hunde signifikant erhöht und das Verhältnis der AA/DGLA war signifikant niedriger im Vergleich zu den gesunden Hunden (siehe Tab. 4.17).

Tab. 4.17: Signifikant veränderte Werte der Plasmafettsäuren und deren Verhältnisse; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD

Paar	Octadecatetraensäure in Gew.% FAME		DGLA in Gew.% FAME		AA/DGLA	
	A	G	A	G	A	G
1	0,06	0,05	1,23	0,69	12,08	26,09
2	0,17	0,18	1,44	1,41	10,05	10,82
3	0,10	0,06	1,31	0,88	11,2	20,47
4	0,08	0,04	0,88	0,88	19,68	21,35
5	0,07	0,06	1,32	0,86	15,13	22,15
6	0,07	0,07	1,54	1,37	9,13	11,86
7	0,08	0,05	1,06	0,72	17,85	28,99
8	0,08	0,06	0,63	0,60	39,79	39,5
MW	0,09	0,07	1,18	0,93	16,86	22,65
SD	0,03	0,04	0,30	0,30	9,99	9,25
MD	0,02		0,25		-5,79	
95% C.I.	0,002 bis 0,03		0,07 bis 0,43		-10,24 bis -1,34	
Signifikanz	P = 0,031		P = 0,014		P = 0,018	

Die absoluten und prozentualen Werte der einzelnen Fettsäuren, die Verhältnisse ausgewählter n6-Fettsäuren zueinander, die Summe der n6- und n3-Fettsäuren und das Verhältnis der n6- zu den n3-Fettsäuren sind im Anhang in Tab. 9.13 bis 9.15 dargestellt.

#### 4.5 Cholesterol- und Triacylglyceringehalte im Plasma

Weder im Cholesterol- noch im Triacylglyceringehalt wurden Unterschiede zwischen den beiden Hundegruppen ermittelt (siehe Tab. 4.18).

Tab. 4.18: Cholesterol- und Triacylglyceringehalt im Plasma; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant

Paar	Cholesterol in mmol/l Plasma		Triacylglycerine in mmol/l Plasma	
	A	G	A	G
1	8,23	9,43	0,67	1,21
2	5,52	7,38	0,94	0,53
3	6,63	5,27	1,53	1,74
4	4,29	6,44	0,44	1,17
5	7,9	5,02	1,1	0,52
6	4,28	5,99	0,77	0,48
7	5,16	5,65	0,32	0,65
8	5,76	5,3	0,42	0,52
MW	5,97	6,31	0,77	0,85
SD	1,51	1,47	0,41	0,47
MD	-0,34		-0,08	
95% C.I.	1,83 bis 1,15		-0,47 bis 0,31	
Signifikanz	n.s.		n.s.	

#### 4.6 Vitamin E – Gehalt im Plasma

Die Bestimmung der Plasmagehalte des Vitamin E ergab keinen Unterschied zwischen den an CAD erkrankten und den gesunden Hunden (siehe Tab. 4.19).

Tab. 4.19: Vitamin-E-Gehalt im Plasma; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall von MD, n.s. = nicht signifikant

Paar	Vitamin E in µg/ml Plasma	
	A	G
1	70,41	64,67
2	43,04	63,5
3	64,06	42,88
4	29,86	34,59
5	33,67	29,43
6	30,08	41,27
7	28,01	42,67
8	30,16	24,59
MW	41,16	42,95
SD	16,84	14,57
MD	-1,79	
95% C.I.	-13,12 bis 9,54	
Signifikanz	n.s.	

## 5 Diskussion

Schon frühzeitig entstand die Erkenntnis, dass Fettsäuren für verschiedene Funktionen der Haut von Bedeutung sind. Seit der Feststellung von BURR und BURR (1930), dass ein Ausschluss verschiedener Fettsäuren in der Diät von Ratten zu Mangelercheinungen führt und warmblütige Tiere nicht in der Lage sind LA zu LNA zu synthetisieren, wurden verschiedene Studien zur Bedeutung der Fettsäuren und ihrer Metabolisierung für den Stoffwechsel der Haut durchgeführt.

Während in mehreren humanmedizinischen Studien bei Menschen mit atopischer Dermatitis bereits eine mangelhafte Metabolisierung der Fettsäuren der n6- und n3-Familie nachgewiesen wurde, fehlen eindeutige Untersuchungsergebnisse bei an CAD erkrankten Hunden. Die Zahl der hierzu durchgeführten Studien beim Hund ist gering und bezieht sich meist auf die Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung des Plasmas und des Fettgewebes der Haut (TAUGBOL et al. 1998, SAEVIK et al. 2002). SAEVIK et al. (2002) wiesen in ihrer Untersuchung darauf hin, dass eine Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung von Membranen der Blutzellen sinnvoll erscheint. Die Fettsäurezusammensetzung der Lipiddoppelschicht der Erythrozytenmembranen ist ein Marker für die diätetische Aufnahme von Fetten, sowie eine Folge des Zusammenspiels zwischen endokrinen Veränderungen und Umwelteinflüssen (ZAMARIA 2004).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob es Unterschiede in der Zusammensetzung der Membranfettsäuren in Erythrozytenmembranen zwischen an Atopie erkrankten und im gleichen Haushalt lebenden gesunden Hunden gibt.

### 5.1 Diskussion der Methoden

#### 5.1.1 Auswahl der Hunde und Ausschlusskriterien

Es war ein längerer Zeitraum nötig (September 2001 bis März 2003), um eine Anzahl von 10 Hundepaaren zu erreichen. Zwei der Paare mussten ausgeschlossen werden. Bei einem an CAD erkrankten Hund war eine anaphylaktische Reaktion auf einen Impfstoff bekannt, so dass aus Sicherheitsgründen kein Intrakutantest bei diesem Tier durchgeführt und das Paar nicht in die Studie einbezogen wurde. Bei einem zweiten Paar reichte die Menge der Ghost-Pellets nicht aus, so dass auch hier keine Ergebnisse zur Verfügung standen. Ursache hierfür war die geringe Menge an Erythrozytenmembranen, die nach der Lyse der Erythrozyten mit dem Phosphatpuffer erhalten wurde.

Die Hunde eines Paares erhielten von ihren Besitzern jeweils ein gleiches kommerziell erhältliches Futter, so dass die über das Futtermittel zugeführten Fettsäuren innerhalb eines Paares keine qualitativen Unterschiede aufwiesen. Da die Futtermittel unterschiedlicher Firmen sich in ihrer Zusammensetzung, Verarbeitung und Lagerung unterscheiden, war davon auszugehen, dass die Fettsäuresupplementierung und dadurch der Gehalt der Fettsäuren in den Erythrozytenmembranen zwischen den einzelnen Paaren stark variiert. Die Ergebnisse von SCOTT et al. (1997) machten deutlich, dass der Einsatz von Hundefutter

verschiedener Firmen und Sorten Unterschiede im Gehalt der Fettsäuren des Plasmas zur Folge hat.

Einige Untersucher beschrieben einen Einfluss der Supplementierung des Futters mit Fettsäuren auf deren Gehalt in Plasma, Fettgewebe und Blutzellen (SCHÄFER u. KRAGBALLE 1991, SOYLAND et al. 1993, BIAGI et al. 1994). Die Hunde der vorliegenden Studie erhielten für den Zeitraum von vier Monaten vor der Blutentnahme keine Fettsäuren oder entsprechende Präparate verabreicht. Die Lebensdauer der Erythrozyten von ca. 120 Tagen lässt deshalb die Aussage zu, dass in der vorliegenden Arbeit kein Einfluss durch eine zusätzliche Gabe von Fettsäuren bestand.

Andere Untersucher vermieden die Zufütterung von Fettsäuren vor ihren Studien an CAD erkrankten Hunden für sechs Wochen bzw. drei Monate (SCOTT et al 1997, SAEVIK et al. 2002).

Glucocorticoide (Glc) sind in ihrer therapeutischen Anwendung zur Behandlung entzündlicher Erkrankungen weit verbreitet. Die Hauptwirkung der Glc beruht auf der Unterdrückung der Expression von Genen, die für die Bildung von Cytokinen, Enzymen, Rezeptoren und Adhäsionsmolekülen von Bedeutung sind (BARNES 1998).

THIESEN et al. (2002) zeigten des weiteren in ihrer Untersuchung mit Prednisolon behandelte Ratten mit einer beim Menschen üblichen therapeutischen Dosis eine gesteigerte Aufnahme verschiedener Fettsäuren aus dem Darmlumen. Glc bewirken auch eine Mobilisierung von Fetten aus Speichergeweben.

In der vorliegenden Arbeit sollte sowohl eine Beeinflussung des Entzündungsgeschehens als auch eine Einwirkung auf den Metabolismus der Fettsäuren durch Glc vermieden werden. Aus diesem Grund wurden die Besitzer der Hunde angewiesen, mindestens drei Wochen vor der Blutentnahme keine systemischen Cortisonpräparate bei den Hunden anzuwenden. Bei den Hundebesitzern, die Cortisonpräparate zur therapeutischen Behandlung bei ihren Hunden bereits anwendeten, betrug die tolerierte cortisonfreie Zeitspanne drei Wochen. Dies betraf drei der Atopiker dieser Studie (Atopiker der Paare 2, 5 und 8). Alle anderen Atopiker waren mehrere Monate nicht mit systemischen Glc behandelt worden.

Ein Aussetzen der Cortisonbehandlung für vier Wochen ordneten SCOTT et al. (1997) in ihrer Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung im Plasma von an CAD erkrankten Hunden an. Dagegen war in einer anderen Studie zur Fettsäurezusammensetzung im Plasma atopischer Hunde ein Patient mit einbezogen, der im Zeitraum der Blutentnahme eine Cortisonbehandlung erhielt (SAEVIK et al. 2002). In einer weiteren Arbeit schlossen die Untersucher nur solche Hunde aus, die eine Behandlung mit langwirkenden Cortisonpräparaten (Depotpräparate) erhielten (SAEVIK et al. 2004). Ein Absetzen von lokal angewendeten Corticoiden vor der Untersuchung wurde in der Literatur nicht beschrieben. In der vorliegenden Arbeit erhielt lediglich ein Hund (Atopiker des Paares 5) bis zwei Wochen vor dem Hauttest und der Blutentnahme lokal ein Cortisonpräparat verabreicht.

Die Pharmakokinetik der Glc ist trotz einer breiten Anwendung in der Veterinärmedizin bei unseren Haustieren in vielen Punkten noch lückenhaft (LÖSCHER, UNGEMACH u. KROKER 2003). Glucocorticoide haben beim Hund eine Halbwertszeit von maximal 150 min. Eine Ausnahme bilden fluoriierte Glucocorticoide mit teilweise mehr als 360 min und kristalline Suspensionen zur Injektion (Depotpräparate) mit mehreren Tagen bis Wochen. Die in der vorliegenden Arbeit gewählte cortisonfreie Behandlungszeit von drei Wochen erscheint

somit hinsichtlich der Beeinflussung des Entzündungsgeschehens ausreichend. Depotpräparate kamen bei keinem der Hunde zur Anwendung.

### 5.1.2 Gewinnung und Bearbeitung der Proben

In dieser Studie wurden den Hunden ca. 9 ml Blut entnommen. Die durchschnittliche Lipidausbeute bei der Extraktion aus den Erythrozytenmembranen in dieser Arbeit betrug 2,8 mg/ml Erythrozyten. Entscheidend für die Höhe der Lipidausbeute sind die Wahl des Extraktionsmittels und die angewendete Extraktionszeit. Die Anwendung von Chloroform-Methanol mit einer Extraktionszeit von 4 h stellte sich in der vorliegenden Arbeit als ausreichend heraus. Dies wird durch den Vergleich mit der Extraktionsausbeute anderer Untersucher bestätigt. So untersuchten WARDA und ZEISIG (2000) die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen von Kamelen und verwendeten hierzu die extrahierten Lipide von Erythrozyten aus 2 ml Blut. Die Ausbeute des Lipidextraktes betrug hier ca. 2 mg/ml Erythrozyten. Die benötigte Blutmenge in dieser Studie war im Vergleich zu dem in der vorliegenden Arbeit entnommenen Blutvolumens von 9 ml ausgesprochen niedrig. Von WARDA und ZEISIG wurden jedoch nur die Fettsäuren des gesamten Lipidextraktes mittels Gaschromatographie und die Verteilung der einzelnen Phospholipidklassen durch Dünnschichtchromatographie bestimmt. Eine Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung von gewonnenen Phospholipidklassen erfolgte nicht.

Für die Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung mittels der durch Dünnschichtchromatographie gewonnener Phospholipidklassen der Erythrozytenmembranen von Kindern, die an Juveniler Arthritis litten, wurden von GORSKA et al. (2000) 3 ml Blut entnommen. Im Gegensatz dazu verwendeten PEKINER und PENNOCK (1995) in ihrer Studie zur Fettsäurenbestimmung der Erythrozytenmembranen und des Plasmas bei Hund und Mensch 10 ml Blut. Die in der Literatur angegebenen verwendeten Blutvolumina waren demzufolge recht unterschiedlich und abhängig von der Zahl der zu untersuchenden Parameter und der Entscheidung der Untersucher, welche Menge benötigt wird.

Entsprechend den aus dieser Studie entstandenen Erfahrungen würde eine Probe von 5ml Blut ausreichen, jedoch wäre bei einer nötigen zweiten Bestimmung nicht mehr genügend Lipidextrakt vorhanden.

Eine entscheidende Einschränkung für die mögliche, zu entnehmende Blutmenge ist auch die Größe bzw. das Gewicht des Hundes und der Entnahmeort. Bei Hunderassen mit einem Gewicht von unter 5 kg bedeutet eine Entnahme von 5 ml Blut schon einen Blutverlust von über 10 %. Als Vene für die Entnahme der Proben wurde die Vena cephalica antebrachii gewählt. Diese Vene ist das in der Praxis üblicherweise genutzte Gefäß zur Entnahme von Blutproben. Die in dieser Arbeit verwendete Punktionskanüle mit einem Durchmesser von 1mm besaß die ausreichende Größe, um die gewünschte Blutmenge zu erhalten. Es war mit dieser Kanülengröße möglich, Blutproben ohne Beschädigung der Erythrozyten durch Hämolyse zu entnehmen. Kanülen mit kleineren Volumina verschließen schneller durch die Gerinnung des Blutes und es kommt eher zur Hämolyse der Probe.

Die für die Trennung der Phospholipide genutzte Dünnschichtchromatographie (DC) ist eine weit verbreitete Methode. Es können jedoch durch das Herauskratzen der Lipidfraktionen und



Oxidation bei der Trocknung der Platten Fettsäurenverluste auftreten. Mitunter ist es bei der DC schwierig, die detektierten Lipidbanden sicher zu identifizieren und zu trennen, so dass Verunreinigungen der Lipidfraktionen auftreten können. Die Bestimmung und Trennung von Plasmalogenen ist mittels DC kaum möglich. Das PE liegt z.B. zu einem Teil als Plasmalogen vor, dieses kann jedoch bei der DC nicht vom PE unterschieden werden.

Eine andere Möglichkeit der Fraktionierung der Lipide stellt die Trennung mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC), speziell der Adsorptionschromatographie, dar (EDER 1992). Diese Methode weist eine hohe Empfindlichkeit und Genauigkeit auf und die Fettsäurenverluste scheinen nicht so hoch zu sein wie bei der Dünnschichtchromatographie (siehe auch 5.5). Plasmalogene einzelner Lipide sind mit dieser Methode identifizierbar. Nachteile der HPLC liegen in dem hohen apparativen Aufwand, sowie der daraus entstehenden höheren Kosten. Die Detektion der Lipide bei der Trennung mittels HPLC stellt sich oft schwierig dar. Verwendet wird hierbei die UV- und die Lichtstreuungsdetektion; Veränderungen der Raumtemperatur können zu Schwankungen der Retentionszeiten und zu Ungenauigkeiten bei der Trennung der Lipide führen.

Trotz der aufgeführten Nachteile, die bei der Trennung der Phospholipide mittels DC auftreten können, wurde in der vorliegenden Arbeit diese Methode gewählt, da die Fraktionierung der Phospholipide dadurch einfach und effizient durchgeführt werden konnte. Die für die Bestimmung der Fettsäuren der einzelnen gewonnenen Lipidfraktionen und des Plasmas genutzte GC ist eine Standardmethode, die eine hohe Spezifität und Sensitivität aufweist.

### 5.1.3 Durchführung und Bewertung der Allergietests

Eine genaue Diagnostik der CAD ist in der tierärztlichen Praxis ein entscheidender Faktor für den Erfolg der Allergenspezifischen Immunotherapie (BAKER 1969). Für die vorliegende Arbeit waren die Allergietests Teil einer umfassenden Diagnostik, um geeignete Hunde für die Studie auszuwählen. Da sowohl der in vivo- (Intrakutan-) als auch der in vitro- (IgE-) Test Vor- und Nachteile haben (CHALMERS u. MEDLEAU 1994), wurde die Entscheidung getroffen, bei den erkrankten Hunden beide Tests durchzuführen.

#### 5.1.3.1 Intrakutantest

Mit dem Intrakutantest wird der transepidermale Weg der Allergenexposition nachempfunden. Obwohl er gerade deshalb weltweit als Standardtest klassifiziert wird, findet er bei den Tierärzten in Deutschland wenig Anwendung. Ursache dafür ist die wesentlich einfachere Durchführung des IgE-Testes aus der Sicht des behandelnden Tierarztes, aber auch der Tierbesitzer (HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998). CHALMERS und MEDLEAU (1994) bezeichneten den Intrakutantest als populäre Methode bei den Praktikern in Amerika zur Feststellung der Reaktion von Hunden auf verschiedene Allergene.

Bei den Besitzern der Tiere der vorliegenden Arbeit war die Akzeptanz sehr unterschiedlich. Die Rasur an der seitlichen Thoraxwand wurde oft als drastische Maßnahme angesehen. Die Nutzung eines weniger auffälligen Hautbereiches, wie z.B. an der ventralen Thoraxwand

oder dem Innenschenkel war nicht möglich, da für eine korrekte intradermale Injektion und Auswertung des Tests sowohl eine ausreichende Dicke als auch eine plane Fläche des genutzten Hautbereiches notwendig waren. In der Literatur wird ebenfalls die seitliche Thoraxwand als Hautareal für den Intrakutantest bevorzugt (NESBITT 1978, KOCH u. PETERS 1994, HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998, ZUR et al. 2001).

Nach Möglichkeit wurden in der vorliegenden Arbeit unpigmentierte Hautbereiche genutzt, da diese bei der Beurteilung der Hautrötung sich als besser auswertbar gegenüber pigmentierter Haut darstellten.

Verschiedene Autoren beschreiben die Durchführung des Intrakutantests unter einer Sedation der Patienten (KOCH u. PETERS 1994, HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998). In einer Studie zu verschiedenen Intrakutantests in Nordamerika wurden bei 26 % der Hunde Tranquilizer oder Narkotika verwendet (DeBOER 1989). Bei CODNER et al (1993) und ZUR et al (2002) wurde nur bei je einem Patienten eine Sedation während des Intrakutantests angewendet. In der vorliegenden Studie war ebenfalls nur bei einem Hund eine Sedation mit Domitor® (Pfizer) notwendig; alle anderen Hunde tolerierten die Seitenlage und die Injektionen ohne größere Probleme. Da der Einsatz eines Tranquilizers das Ergebnis eines Tests möglicherweise beeinflussen kann, sollte dessen Anwendung nur erfolgen, wenn eine Sedation unumgänglich ist (Hunsinger, Birgit, pers. Mitteilung, Universität Hohenheim, 10.12.2004).

Auf eine Desinfektion des für den Test vorbereiteten Hautareals mit alkoholhaltigen Hautdesinfektionsmitteln wurde in den eigenen Untersuchungen verzichtet, um eine unnötige Reizung und Rötung der Haut und damit eine eventuell falsche Auswertung der Reaktionen auf die Allergene zu vermeiden. Während NESBITT et al. (1978) eine Desinfektion der Untersuchungsstelle beschrieben, wurde in den neueren Untersuchungen von KOCH und PETERS (1994) und HÄMMERLING und LEIDINGER (1998) keine Behandlung mit Hautdesinfektionsmitteln durchgeführt.

Die Schwellung der Histaminreaktion (Positivkontrolle) war bei sechs der an CAD erkrankten Hunde größer oder gleich 12 mm, bei zwei Hunden zeigte sie sich schwächer. Bei diesen beiden Tieren war dennoch ein deutlicher Unterschied zwischen der Positiv- und der Negativkontrolle zu finden, so dass der Test ausgewertet werden konnte. Von MARSELLA und NICKLIN (2001) wurde die Histaminreaktion bei Hunden mit CAD im Vergleich zu gesunden getestet. Es zeigte sich, dass die Wirkung auf die Histamininjektion bei den an CAD erkrankten im Vergleich zu den gesunden Hunden geringer ausfiel. Die Autoren halten eine ansteigende cutane Histaminkonzentration bei den atopischen Hunden und möglicherweise die damit verbundene veränderte Sensitivität der Rezeptoren für die Ursache dieser unterschiedlichen Reaktionen. Dies könnte die unterschiedlichen Reaktionen innerhalb der Gruppe der atopischen Hunde erklären. So zeigten die Atopiker 7 und 8 hochgradige Symptome und wiesen dennoch eine geringere Schwellung der Positivkontrolle auf.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei allen acht Atopikern positive Reaktionen auf asaisonale Allergene gefunden. Nur drei Hunde zeigten zusätzlich positive Testergebnisse auf saisonale Allergene. Diese Beobachtung deckt sich mit denen anderer Untersucher in Europa, die ebenfalls häufig positive Reaktionen bei den asaisonalen Allergenen fanden (KOCH u. PETERS 1994, HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998).

Die positiven Reaktionen auf asaisonale Allergene fanden sich hauptsächlich bei den Vorratsmilben (*Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentie* und *Acarus siro*). Alle acht an Atopie erkrankten Hunde wiesen positive Reaktionen bei den Milbenallergenen auf. Sechs der acht Hunde reagierten hier auf mehr als ein Milbenallergen. Drei der acht Hunde wurden positiv auf alle drei Milbenarten getestet. In der französischen Studie von BENSIGNOR und CHARLOTTI (2002) wurden bei 80 % der atopischen Hunde mindestens zwei positive Reaktionen auf Milbenallergene getestet. Dieses Ergebnis ist ähnlich dem der vorliegenden Arbeit.

Bei den saisonalen Allergenen reagierten zwei der acht Hunde auf die Gräserpollenmischung und jeweils ein Hund auf die Kräuter- und Baumpollenmischung. Bei zwei weiteren Hunden war die Reaktion auf die Gräserpollenmischung fraglich. Desgleichen fanden CODNER et al. (1993) in ihrer Untersuchung häufiger positive Reaktionen auf Gräserpollen. Keinen Unterschied in der Häufigkeit der Reaktion auf diese Allergenruppen fand DeBOER (1989). Auffallend bei dieser amerikanischen Studie waren die fast gleich starken Reaktionen des Hauttestes bei den saisonalen und den asaisonalen Allergenen. Regionale Unterschiede in der Reaktion auf verschiedene Allergene könnten die Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse der Arbeit von DeBOER (1989) und der vorliegenden sowie anderer europäischer Arbeiten sein. So fanden auch die Untersucher einer japanischen Studie an 42 atopischen Hunden zwar zahlenmäßig größere Reaktionen bei den asaisonalen im Vergleich zu den saisonalen Allergen; hier war dennoch eine häufige Reaktion der atopischen Hunde auf eine einzelne heimische (japanische) Zedernart zu finden.

Aufgrund der geringen Probandenanzahl der vorliegenden Arbeit ist jedoch hinsichtlich der Allergenreaktionen keine repräsentative Aussage zu treffen.

SCOTT (1981) und NESBITT et al. (1984) beschreiben bessere Ergebnisse der Intrakutanteste, wenn die Allergene einzeln und nicht in Mischungen angewendet werden. Die beiden Studien verglichen die positiven Reaktionen der Einzelallergene mit den Mischungen, in denen diese auch enthalten waren und fanden nur eine maximal 60 – 75%ige Übereinstimmung. Bei der Verwendung von Einzelallergenen beim Hauttest kann jedoch nur eine beschränkte Anzahl von Allergenen getestet werden, weshalb in vielen Studien, wie auch in der vorliegenden, dennoch Allergenmischungen verwendet wurden

#### 5.1.3.2 IgE-Tests

In dieser Studie wurden bei den Paaren 1 bis 4 ein Monoklonaler-AK- und bei den Paaren 5 bis 8 ein Fcε-Rezeptor-Test angewendet.

IgE-Tests können nach ihrer Sensitivität (= Eignung einer Methode, den positiven Wert richtig zu erkennen) und auch nach ihrer Spezifität (= Eignung einer Methode, unter den negativen Werten kein falsch positives Resultat zu haben) beurteilt werden (BIGLER et al. 1996). Wird für ein bestimmtes Allergen beim Hauttest ein negatives und beim IgE-Test ein positives Ergebnis erzielt, so wird dieses Ergebnis in der Literatur als falsch-positiv bewertet, da sich die Autoren meist am Hauttest als den sogenannten „Golden Standard“ orientieren (HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998). Ein negativer IgE-Test bei einem positiven Hauttest wäre demnach falsch-negativ.

In Bezug auf die *asaisonalen Allergene* war bei den atopischen Hunden im IgE-Test verglichen mit dem Intrakutantest eine hohe Sensitivität zu finden. Ausgewertet wurden hierbei nur Allergene, die sowohl im Haut- als auch im IgE-Test vorkamen (*Dermatophagoides farinae*, *Tyrophagus putrescentie* und *Acarus siro*). Beim monoklonalen Antikörpertest stimmten die positiven Reaktionen bei diesen Allergenen mit dem Intrakutantest überein. Beim Fcε-Rezeptor-Test fanden sich bei den Atopikern 7 und 8 positive Ergebnisse bei *Dermatophagoides farinae* und *Tyrophagus putrescentie*, sowie eine positive Wertung des Flohallergens beim Atopiker 7, die sich im Intrakutantest nicht bestätigten.

Dennoch sprechen diese Ergebnisse für eine gute Sensitivität beider Tests für die *asaisonalen Allergene*, die auch beim IgE-Test die häufigsten positiven Reaktionen zeigten.

Die Beurteilung der *saisonalen Allergene* der IgE-Tests im Vergleich zum Intrakutantest gestaltete sich schwieriger, da die Allergenmischungen, besonders die des monoklonalen IgE-Testes zu denen des Intrakutantest, in ihrer Zusammensetzung differierten. Es konnten somit lediglich zwei falsch-negative Befunde beim Monoklonalen IgE-Test und zwei falsch-negative Reaktionen beim Fcε-Rezeptor-Test ermittelt werden. Zur Sensitivität der Tests hinsichtlich der *saisonalen Allergene* ist aus diesem Grund keine Aussage zu treffen.

Bei den gesunden Hunden gab es zahlreiche positive Reaktionen beim monoklonalen AK-Test sowohl bei den *saisonalen* (drei von vier Hunden zeigten eine positive Bewertung) als auch bei den *asaisonalen Allergen* (drei von vier Hunden zeigten eine positive Bewertung). Mit dem Fcε-Rezeptor-Test wurden bei den *saisonalen Allergenen* keine positiven Reaktionen der vier gesunden Hunde ermittelt. Bei den *asaisonalen Allergenen* zeigten zwei Hunde positive Ergebnisse. Diese Resultate bei den gesunden Hunden weisen möglicherweise auf eine größere Spezifität des Fcε-Rezeptor-Testes hin.

Bei der In-vitro-Allergiediagnostik wurden am Anfang der praktischen Durchführung dieser Diagnostikform polyklonale Antikörper für den ELISA genutzt, die aber häufig neben den IgE auch das IgG mit erfassen (HÄMMERLING u. LEIDINGER 1998). Bei einer Studie über die Anwendung von zwei kommerziellen ELISA, wobei polyklonale Antikörper verwendet wurden, verglichen die Untersucher die Ergebnisse von klinisch gesunden Hunden ohne Symptome mit an CAD erkrankten Hunden. Diese Tests zeigten neben einer hohen Sensitivität eine niedrige Spezifität. Eine genaue Diagnostik war aus diesem Grund nicht möglich. Vor allem bei den *asaisonalen Allergenen* reagierten beide Gruppen im gleichem Maße mit positiven Reaktionen. Die Autoren zogen hieraus den Schluss, dass ein positiver in-vitro-Allergietest kein alleiniges Indiz für eine atopische Erkrankung darstellt (BOND et al. 1994).

Die Möglichkeit einer spezifischen Diagnostik mit dem Einsatz monoklonaler Antikörper wird von HÄMMERLING und LEIDINGER (1998) beschrieben. Der Einsatz mehrerer monoklonaler Antikörper würde hierbei die Empfindlichkeit erhöhen, um möglichst viele Allergene zu erfassen (DERER et al. 1998). In der vorliegenden Arbeit wurde aus diesem Grund ein Labor ausgewählt, dass einen monoklonalen Antikörpertest für die Allergiediagnostik verwendet. Während der Studie wechselte das Labor die Untersuchungsmethode, um bessere Ergebnisse in der Allergiediagnostik beim Hund zu

erhalten. Der hierbei angewandte Fcε-Rezeptor-Test stellt eine weitere Form eines In-vitro-Allergietests dar. Er ist vor allem für die Allergiediagnostik beim Pferd von Bedeutung, da hier keine monoklonalen Antikörper für einen In-vitro-Test zur Verfügung stehen. Dieser Test nutzt die rekombinante alpha-Kette eines humanen Mastzellrezeptors (Fcε-Rezeptor, rHUFcεR1a) zum Nachweis von allergenspezifischem IgE, ohne dass speziesspezifische monoklonale Antikörper notwendig sind (Hunsinger, Birgit, pers. Mitteilung, Universität Hohenheim, 10.12.2004). In der vorliegenden Arbeit weist der Fcε-Rezeptor-Test, wie bereits beschrieben, eine höhere Spezifität als der monoklonale IgE-Test auf.

In einer Studie von FOSTER et al. (2003) wurde der Fcε-Rezeptor-Test beim atopischen Hund im Vergleich zu einem Intrakutantest angewendet. Im Ergebnis zeigten sich positive Reaktionen im ELISA gleich oft und häufiger (falsch-positiv) als im Intrakutantest. Nur bei den Hausstaubmilben (*Dermatophagoides farinae* und *pteronyssinus*) ergab sich eine niedrigere Sensitivität des ELISA-Tests (falsch-negative Reaktionen). Hinsichtlich der Hausstaubmilbe *Dermatophagoides farinae* deckt sich diese Aussage mit unseren Ergebnissen. Die falsch-positiven Reaktionen waren besonders bei den saisonalen Allergenen festzustellen. Die Untersucher halten es hier für möglich, dass eine Kreuzreaktion von Glycan-Epitopen, die sich auf dem HRP (horseradish peroxidase)-Reagenz dieses Tests befindet, hierfür verantwortlich ist. Diese führt zur Bindung unspezifischer IgE- und IgG-Antikörper und damit zu falsch-positiven Reaktionen. Auch Unterschiede in den verwendeten Allergenen von Intrakutan- bzw. IgE-Test können zu falsch-positiven oder falsch-negativen Ergebnissen führen. Die Sensitivität, aber nicht die Spezifität für die Hausstaubmilben erhöhte sich durch einen herabgesetzten Grenzwert für die Optische Dichte, mit welcher der Farbumschlag bei positiven Reaktionen bewertet wird. FOSTER et al. (2003) schlossen ebenfalls aus ihrer Studie, dass für die Diagnostik der Atopie Anamnese, klinische Anzeichen, In-vivo- und In-vitro-Test zugleich angewendet werden sollten und ein positiver in-vitro-Test allein kein Anzeichen für eine atopische Erkrankung ist.

Die Allergie ist ein komplexer immunologischer Vorgang, bei dem es kaum ein einziges diagnostisches Verfahren geben kann, das zuverlässig alle Allergien diagnostiziert. Ein positiver Allergietest darf nur bei dem Vorhandensein klinischer Anzeichen gewertet werden. Im Gegenzug dazu ist ein negativer Allergietest beim Vorliegen von klinischen Anzeichen einer Atopie ebenso wenig aussagekräftig, da eventuell auch andere außer den IgE-vermittelten Reaktionen vorliegen könnten oder relevante Allergene nicht getestet wurden (Hunsinger, Birgit, pers. Mitteilung, Universität Hohenheim, 10.12.2004).

## **5.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **5.2.1 Gehalte der Phospholipidfraktionen in Erythrozytenmembranen**

Die Bestimmung der Lipidfraktionen der EM erfolgte densitometrisch und rechnerisch über deren Gehalt an Fettsäuren. Bei keiner der beiden Methoden konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den atopischen und den gesunden Hunden festgestellt werden.

Die bedeutendsten Fraktionen bei beiden Bestimmungen bildeten das PC und das PE (PC>PE>PS>SM). Auffallend bei der densitometrischen Bestimmung waren der hohe Gehalt

an SM und PS im Vergleich zu der rechnerischen Ermittlung der Phospholipide in dieser Arbeit. Eine mögliche Ursache für die abweichenden Ergebnisse der densitometrischen Methode könnte darin liegen, dass Unterschiede in der Farbintensität nach der Reaktion mit der 10%-igen ethanolischen Molybdatphosphorsäure zwischen den Lipidfraktionen der Standardlösung und denen der Erythrozytenmembran vorliegen. EDER et al. (1992) betonten in ihrer Veröffentlichung ebenfalls, dass Quantifizierungsmethoden wie Densitometrie, Gravimetrie oder photometrische Bestimmung häufig ungenaue Ergebnisse liefern.

Beim Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit den Angaben in der Literatur zeigten sich ebenfalls Unterschiede, aber auch Gemeinsamkeiten (siehe Tab. 5.1). Auffällig ist eine relative Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen der Arbeiten von EDER et al. (1992) und GORSKA et al. (2000) mit denen in der vorliegenden Arbeit rechnerisch ermittelten Mengen der Lipidfraktionen. EDER et al. (1992) stellten fest, dass sich durch die verschiedenen Methoden zur Trennung und Quantifizierung bei der Bestimmung der Phospholipidklassen ein Vergleich von Ergebnissen in der Literatur schwierig gestaltet.

Tab. 5.1: Vergleich der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit verschiedenen Ergebnissen aus der Literatur zur Bestimmung von Phospholipidklassen in EM; prozentualer Anteil der einzelnen Phospholipide; D/A = Densitometrie/Atopiker, D/G = Densitometrie/Gesunde Hunde, R/A rechnerisch/Atopiker, R/G = rechnerisch/Gesunde Hunde, 1 = EDER et al. (1992) Ratte, 2 = GORSKA et al. (2000) Mensch, 3 = WARDA und ZEISIG (2000) Kamel, SM = Sphingomyelin, PC = Phosphatidylcholin, PS = Phosphatidylserin, PE = Phosphatidylethanolamin

Phospholipid- klasse	Vorliegende Arbeit				Autoren		
	D/A	D/G	R/A	R/G	1 (Ratte)	2 (Mensch)	3 (Kamel)
<b>SM</b>	21,6	22,4	4,9	4,1	12,3	8	46,9
<b>PC</b>	29,4	30,3	45,7	45,3	47,9	50	20,9
<b>PS</b>	21,6	22,1	15,3	16,4	8,2	11	19,7
<b>PE</b>	27,4	25,1	33,6	34,2	31,6	30	12,4

EDER et al. (1992) und GORSKA et al. (2000) nutzten für ihre Untersuchung die HPLC zur Trennung der Phospholipide und ermittelten deren Anteile nach der Bildung der Summe ihrer mittels GC bestimmten Fettsäuren. Laut der Autoren bestehen die Vorteile dieser Methode in der größeren Menge Lipidextrakt, die somit aufgetrennt werden kann und darin, dass mit einem Arbeitsschritt sowohl die Bestimmung der Fettsäuren, als auch die Mengenbestimmung der Phospholipide möglich war. Die stärksten Fraktionen dieser beiden Arbeiten waren, wie auch in der vorliegenden Arbeit, das PC und das PE.

WARDA und ZEISIG (2000) nutzen für ihre Studie die Trennung der Phospholipide mittels Dünnschichtchromatographie. Die Fettsäurenbestimmung wurde mit der GC durchgeführt und die Bestimmung der Verhältnisse der Lipidfraktionen zueinander erfolgte densitometrisch. Die Ergebnisse der densitometrischen Bestimmung der Fettsäuren der

vorliegenden Arbeit sind ähnlich der Ergebnisse von WARDA und ZEISIG (2000; siehe Tab. 5.1) beim Kamel.

Die Trennung der Phospholipide mittels HPLC wurde von EDER et al. (1992) gegenüber der präparativen Methode der Dünnschichtchromatographie favorisiert. Die Autoren merkten an, dass bei der Dünnschichtchromatographie durch das Herauskratzen größere Verluste auftreten können und auch die Oxidation der Lipide bei der Trocknung der Platten zur Verfälschung der Ergebnisse führen kann. Die Verluste durch Oxidation und Herauskratzen der Fraktionen in der vorliegenden Arbeit waren nicht einzuschätzen, da speziebedingte Unterschiede bei der Verteilung der Lipidfraktionen zu beachten sind und ein direkter Vergleich zu einer Trennung der Phospholipidklassen mittels HPLC beim Hund fehlt.

ENGEN et al. (1990) bestimmten die Phospholipide mittels HPLC und führten eine Quantifizierung durch den Vergleich mit dem Chromatogramm einer Standardmischung durch (siehe Tab. 5.2).

Tab. 5.2: Unterschiede in der Verteilung der Phospholipidklassen der EM verschiedener Tierarten (nach ENGEN et al. 1990), Angaben in Prozent; n = Anzahl der Bestimmungen, SM = Sphingomyelin, PC = Phosphatidylcholin, PE = Phosphatidylethanolamin, PI = Phosphatidylinositol, PG = Phosphatidyl-glycerol

Phospholipid	Schaf n = 19	Pferd n = 16	Rind n = 17	Schwein n = 20	Hund n = 19
SM	65,9	30,4	35,4	32,6	20,4
PC	11,0	47,1	37,9	41,4	53,4
PE	5,6	15,8	16,1	13,2	12,9
PI	3,4	1,9	3,9	5,6	5,2
PG	14,0	4,9	6,7	7,3	8,2

Die Autoren ermittelten deutliche Unterschiede zwischen den untersuchten Tierarten. Durch diese artbedingten Unterschiede wird ein Vergleich verschiedener Phospholipidbestimmungen in der Literatur ebenfalls erschwert, da sich die dort ermittelten Ergebnisse immer auf eine andere Spezies beziehen.

### 5.2.2 Cholesterol- und Triacylglyceringehalte im Plasma

Die Bestimmung des Cholesterol- und Triacylglyceringehaltes im Plasma atopischer und gesunder Hunde ergab in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten Unterschiede.

Im Gegensatz zu diesem Ergebnis fanden BODNER et al. (1999) in einer humanmedizinischen Studie bei den atopischen Patienten einen erhöhten Plasmatriacylglyceringehalt. In einer älteren humanmedizinischen Arbeit wurden ebenfalls erhöhte Plasmatriacylglycerinwerte bei Patienten mit allergischen Reaktionen auf chemische Stoffe (z.B. Butylhydroxytoluol) gefunden (FISHERMAN et al. 1977).

VAN DEN BROEK und SIMPSON (1989) berichteten von einem signifikanten Unterschied des Serumtriacylglycerinspiegels von atopischen Hunden nach der Fütterung von 3 ml/kg KG (maximal 90 ml/Hund) eines Pflanzenöls und der nachfolgenden Messung des

Triacylglycerinspiegels jede halbe Stunde. Sie fanden 120 und 180 min nach der Zufütterung einen signifikanten Unterschied in Form niedrigerer Werte bei den untersuchten atopischen im Vergleich zu den gesunden Hunden vor. Vier Stunden nach der Zufütterung glichen sich die Triglyceridgehalte bereits wieder an. Die Untersucher ziehen die Möglichkeit einer defekten Fettabsorption oder einer gesteigerten Plasma-Triacylglycerin-Clearance in Betracht. Ob dieser fehlende Plasmapeak des Triacylglycerins bei den atopischen Hunden eine Bedeutung für den Fettsäurenstoffwechsel besitzt, ist ungeklärt. Möglicherweise ist diese Erkenntnis bei einer Mangelversorgung mit Fetten oder Ölen von Bedeutung und hat bei normaler Fütterung der Hunde keine Auswirkungen.

Auch in der vorliegenden Arbeit scheint der Plasmatriacylglyceringehalt bei den atopischen Hunden niedriger zu sein. Die gemessenen Triacylglycerinwerte der atopischen und der gesunden Hunde liegen hierbei in dem von KRAFT und DÜRR (1999) angegebenen Normalbereich von 0,29 bis 3,88 mmol/l. Die gemessenen Triacylglycerinwerte innerhalb eines gleichgefütterten (Futtermittel und Fütterungszeit) Paares zeigten große Unterschiede. Diese verschiedenen Werte sprechen für individuelle Unterschiede bei der Fettresorption.

Die ermittelten Plasmacholesterolgehalte der atopischen und gesunden Hunde lagen ebenfalls in dem von KRAFT und DÜRR (1999) angegebenen Normbereich von 3,1 bis 10,1 mmol/l. Wie bereits erwähnt, gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Atopikern und den gesunden Hunden. SCHÄFER et al. 2003 fanden dagegen bei atopischen Menschen erhöhte Serumgehalte des Cholesterols. Die Untersucher vermuten, das Cholesterol eine Rolle im Zusammenspiel von Fettaufnahme, Fettsäurenmetabolismus und der Atopie spielt. Eine Bedeutung des Cholesterols bei der AD wurde ebenfalls von KIMATA (2004) ermittelt. Die mononukleäre Zellkultur von Menschen mit einer Latexallergie wurde mit verschiedenen Konzentrationen von mit Propylenglycol verbundenen Cholesterol stimuliert. Im Ergebnis fanden sich eine erhöhte latexspezifische IgE-Produktion sowie eine höhere IL-4, IL-10 und IL13-Produktion. In einer anderen Arbeit war jedoch kein Unterschied im Serumgehalt des Cholesterols zwischen atopischen und gesunden Kindern zu finden. Das HDL-Cholesterol war bei den atopischen Kindern sogar erniedrigt (McKEEVER et al. 2004). Eine vergleichbare Arbeit zur Cholesterolbestimmung bei atopischen Hunden ist in der Literatur nicht zu finden.

### 5.2.3 Vitamin E-Gehalt im Plasma

Vitamin E wurde in mehreren humanmedizinischen Arbeiten aufgrund seiner antioxidativen und membranschützenden Eigenschaften eingesetzt, um den therapeutischen Effekt bei der Behandlung von atopischen und anderen entzündlichen Hauterkrankungen zu testen (siehe 2.3.4).

ANTILLE et al. (2002) untersuchten den Vitamin E-Gehalt im Stratum corneum der Haut atopisch erkrankter Menschen und ermittelten einen signifikanten Unterschied im Vergleich zu Proben gesunder Haut. Bei den Atopikern war der Vitamin E-Gehalt deutlich höher. Diese Beobachtung stimme nach Meinung der Untersucher mit dem geringeren oxidativen Status in der Haut atopischer Patienten überein und sei eine mögliche Konsequenz der Anpassung an einen chronisch, entzündlichen Zustand der Haut. Ein solcher Bedarf könnte in der Folge einen niedrigeren Gehalt dieses Vitamins im Plasma verursachen.



In der vorliegenden Arbeit ergab die Bestimmung des Vitamin E-Gehaltes im Plasma keinen signifikanten Unterschied zwischen den an CAD erkrankten und den gesunden Hunden.

Signifikant höhere Gehalte des  $\alpha$ -Tocopherols ( $P < 0,001$ ) fanden KELLY et al. (1999) bei der Untersuchung des Plasmas von Patienten mit einer milden Form des Asthmas ( $24,6 \pm 3,6 \mu\text{mol/l}$ ) im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ( $15,5 \pm 3,1 \mu\text{mol/l}$ ). In einer weiteren humanmedizinischen Studie fand sich jedoch kein Unterschied zwischen dem Serumgehalt des  $\alpha$ -Tocopherols atopischer, asthmatischer Kinder ( $17,8 \pm 3,2 \mu\text{mol/l}$ ) und einer Kontrollgruppe ( $18,0 \pm 2,8 \mu\text{mol/l}$ ) (SCHOCK et al. 2003). Ebenfalls keinen Unterschied bei der Messung des Vitamin E-Gehalts im Plasma von atopischen und gesunden Patienten fanden BODNER et al. (1999).

Auffallend in der vorliegenden Untersuchung bei atopischen und gesunden Hunden war ein insgesamt hoher Vitamin E-Gehalt im Plasma der Hunde (24,6 bis 70,4  $\mu\text{g/ml}$ ). KOLB (1996) gibt einen Plasmawert von 5 bis 15  $\mu\text{g/ml}$  für das Vitamin E unter physiologischen Verhältnissen an. Laut NRC (2003) liegt der empfohlene Vitamin E-Bedarf für den Hund bei 24 mg je kg Futter. Nach den Angaben der Hersteller verschiedener Hundefuttermittel erreicht die Supplementierung oft bis zu 500 mg/kg Futter. Diese hohen Vitamin E-Gehalte des Hundefutters sind eine mögliche Ursache für die Unterschiede der in der Literatur aufgeführten und in dieser Arbeit bestimmten Werte.

#### 5.2.4 Unterschiede im Gehalt der n6- und n3-Fettsäuren bei den an CAD erkrankten im Vergleich zu den gesunden Hunden

##### 5.2.4.1 Gehalt der n6-Fettsäuren

Bei der Bestimmung der Fettsäuren der Erythrozytenmembranen (EM) ergaben sich bei den an CAD erkrankten Hunden signifikant niedrigere Gehalte der GLA und der AA, während die DGLA einen signifikant höheren Gehalt im Vergleich zu den gesunden Hunden aufwies.

Dieses Ergebnis spricht für eine herabgesetzte Umwandlung der n6-Fettsäuren, an der die  $\Delta 5$ - und die  $\Delta 6$ -Desaturase, sowie die Elongasen beteiligt sind. Da die an der Metabolisierung beteiligten Elongasen eine sehr schnelle Katalyse bewirken (ROSENTHAL 1987), scheinen die Desaturasen limitierend für die Umwandlung der LA zu sein. Auffallend bei den eigenen Ergebnissen ist, dass die DGLA, welche von der  $\Delta 5$ -Desaturase zur AA umgewandelt wird, bei den kranken Hunden signifikant erhöht und die AA selbst erniedrigt war. Möglicherweise ist hier eine Anreicherung der DGLA als Folge der verringerten Aktivität dieses Enzyms bei der Bildung der AA zu sehen. Auch eine bevorzugte und schnellere Umwandlung der GLA durch die Elongase wäre eine mögliche Erklärung für die signifikante Erhöhung der DGLA bei den atopischen Hunden.

Ebenfalls niedrigere Gehalte der AA und der GLA fanden LINKSKOV und HOLMER (1992) in ihrer Untersuchung mononukleärer Zellen und Erythrozyten bei an AD erkrankten Menschen. In dieser Studie traten die Veränderungen hauptsächlich in den Membranen der mononukleären Zellen auf. In Erythrozyten und mononukleären Zellen fanden die Untersucher auch einen erhöhten Gehalt an LA. Die LA der EM in der vorliegenden Arbeit war zwar nicht signifikant erhöht, zeigte jedoch eine Tendenz zur Erhöhung. Während die

EM bei LINDKSOV und HOLMER (1992), entgegen den in der vorliegenden Arbeit gefundenen Ergebnissen, einen signifikant niedrigeren Gehalt der DGLA aufwiesen, zeigte diese Fettsäure bei den Monozyten einen erhöhten Gehalt. BIAGI et al. (1993) fanden auch in den Phospholipiden der EM von atopischen Kindern einen signifikant höheren Gehalt der LA bei niedrigerem Gehalt der GLA. Diese Ergebnisse entsprechen denen in der vorliegenden Arbeit gefundenen Veränderungen dieser Fettsäuren. Auch OLIWIEKI et al. (1991) fanden erniedrigte Gehalte der AA in den EM atopischer Patienten, allerdings war die DGLA in dieser Arbeit in den EM erniedrigt. Die Aussagen in der Literatur zu den Veränderungen der AA und der GLA sind häufig gleich den Ergebnissen, die in der vorliegenden Arbeit erzielt wurden. Es existieren aber auch Veröffentlichungen, bei denen die Untersucher keine Veränderungen der n6-Fettsäuren bei Atopikern finden konnten (SAKAI et al. 1994). Über Veränderungen der DGLA finden sich widersprüchliche Ergebnisse. Es ist möglich, dass unterschiedliche Stadien oder Formen (atopisches Asthma oder Rhinitis) der Erkrankung auch zu anderen Veränderungen im Fettsäurenmuster führen können. In verschiedenen Arbeiten wurde auch die Diät der Patienten und der Kontrollen im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit nicht in die Untersuchung mit einbezogen, so dass möglicherweise die unterschiedliche Aufnahme von Fettsäuren deren Ergebnisse beeinflusst haben.

Um Metabolisierungsstörungen der Fettsäuren darzustellen, wurden in der vorliegenden Arbeit Verhältnisse zwischen ausgewählten n6-Fettsäuren gebildet.

Die ermittelten Ergebnisse beschreiben eine verringerte Umwandlung der LA zu ihren Metaboliten. Das höhere Verhältnis der LA zur GLA bei den atopischen Hunden weist auf eine verringerte Aktivität der  $\Delta 6$ -Desaturase und das niedrigere Verhältnis der AA zur DGLA auf eine verringerte Aktivität der  $\Delta 5$ -Desaturase hin. Das geringere Verhältnis der AA zur LA bei den atopischen im Vergleich zu den gesunden Hunden ist ein Indikator für die herabgesetzte Umwandlung der LA zur AA und somit ein Indikator für die Aktivität beider Desaturasen. Auch BIAGI et al. (1993) ermittelten in Ihrer Untersuchung der EM von an AD erkrankten Kindern ein verringertes Verhältnis der AA zur LA im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Das Verhältnis dieser ausgewählten n6-Fettsäuren wurde dort ebenfalls als indirekter Indikator der  $\Delta 6$ -Desaturase beschrieben, die demzufolge eine verringerte Aktivität zeigte und möglicherweise die Ursache für Imbalancen in der Prostaglandinproduktion bei einer AD sein könnte.

Im Plasma wurde in der vorliegenden Arbeit bei den n6-Fettsäuren lediglich eine signifikante Erhöhung der DGLA bei den atopischen Hunden ermittelt. Das Verhältnis AA/DGLA war bei den Atopikern niedriger. Diese Ergebnisse entsprechen grundsätzlich den Veränderungen bei den Erythrozytenmembranen und sind eine mögliche Folge der verminderten Aktivität der  $\Delta 5$ -Desaturase bei den an CAD erkrankten Hunden. Die Plasmawerte spiegeln in der vorliegenden Arbeit den Fettsäurenmetabolismus nicht im gleichen Maße wider wie die Erythrozytenmembranen. Auffällig waren auch die zum Teil großen Differenzen der Ergebnisse zwischen den einzelnen Paaren. Jedes Paar wurde mit dem gleichen kommerziellen Futtermittel gefüttert. Innerhalb eines Paares ergaben sich nur geringgradige Unterschiede der Fettsäuregehalte. Beim Vergleich der Paare zueinander traten deutliche Unterschiede auf.

In verschiedenen human- und veterinärmedizinischen Untersuchungen wurden Fettsäurenbestimmungen des Plasmas durchgeführt, wobei nur wenige Untersucher die PUFAS bei an CAD erkrankten Hunden ermittelten. Die Ergebnisse zu den Fettsäuren des Plasmas in den humanmedizinischen Studien stellten sich nicht so einheitlich dar, wie die der Blutzellen. So fanden LINDSKOV und HOLMER (1992) keine Veränderung im Plasma atopischer Patienten, während OLIWIEKI et al. (1991) einen signifikant erhöhten Gehalt der LA bei Atopikern ermittelten. Die gebildeten Verhältnisse der im Plasma bestimmten LA zu ihren Metaboliten wiesen ebenfalls signifikante Unterschiede auf, die auf eine verringerte Metabolisierung der n6-Fettsäuren bei den an CAD erkrankten Hunden hinweisen. Die Autoren erwähnten hier auch die Möglichkeit eines gestörten Einbaus der LA in die Membranen der Zellen, da diese essentielle Fettsäure im Plasma, jedoch nicht in den EM dieser Patienten erhöhte Werte zeigte. MANKU et al. (1984) untersuchten ebenfalls die Fettsäurezusammensetzung des Plasmas atopischer Patienten und fanden hier signifikante Veränderungen bei den n6-Fettsäuren. Die LA zeigte erhöhte, während die Metabolite GLA, DGLA, AA, Adrensäure und n6-DPA niedrige Werte aufwiesen. Das Verhältnis der LA zur AA bildeten BECK et al. (2000) aus den gemessenen Fettsäuren des Nabelschnurblutes von Säuglingen mit einem erhöhten Risiko der atopischen Erkrankung und stellten ebenfalls einen erhöhten Wert im Vergleich zu den Ergebnissen einer Kontrollgruppe fest. Die schon im Nabelschnurblut ermittelten Veränderungen im Fettsäurenmetabolismus sind ein möglicher Hinweis auf dessen Bedeutung für die Pathogenese der AD.

Zusammenfassend weisen die im Plasma von verschiedenen Autoren beschriebenen Veränderungen auf eine verringerte Metabolisierung der LA hin. Die starken Schwankungen bei den Ergebnissen sprechen für eine deutlichere Beeinflussung der Plasmafettsäuren durch Diätetik und Umwelt, als dies bei den Blutzellen der Fall ist. Wichtig für die Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung ist somit die Berücksichtigung der Umwelt- und diätetischen Bedingungen, um aussagefähige Ergebnisse zu erhalten. Die Verwendung von Monozyten bzw. Erythrozyten macht es durch deren begrenzte Lebensdauer möglich, genaue Zeiträume zu definieren, in denen die Bedingungen gleich gestaltet werden müssen. Sowohl LINDSKOV und HOLMER (1992) als auch OLIWIEKI et al. (1991) untersuchten Blutplasma und Blutzellen und erhielten die meisten Unterschiede bei der Untersuchung von Monozyten- bzw. Erythrozytenmembranen.

Eine weitaus geringere Zahl an Studien wurde bei atopischen Hunden durchgeführt (siehe Kapitel 2.2.5). SAEVIK et al. (2002) ermittelten die Fettsäurezusammensetzung im Serum atopischer Hunde und fanden keine Veränderungen der Fettsäuren im Vergleich zu gesunden Hunden. Dies entspricht nicht den Ergebnissen vieler humanmedizinischen Studien, welche, wie bereits erwähnt, häufig einen gestörten Metabolisierungsweg der PUFA aufzeigten. Ebenfalls keine Veränderungen im Gehalt der Plasmafettsäuren bei Hunden mit einer seborrhoischen Dermatitis, jedoch Veränderungen in den Fettsäuregehalten der Haut ermittelten CAMPBELL et al. (1992). Bei den Fettsäuren der Haut zeigte sich ein signifikanter Anstieg der AA und ein niedrigerer Gehalt der LA. Eine Störung der Metabolisierung der n6-Fettsäuren ließ sich hiermit nicht erklären. TAUGBOL et al. (1998) fanden in ihrer Untersuchung der Fettsäuren des Fettgewebes atopischer Hunde lediglich einen signifikant niedrigeren Gehalt der Adrensäure (C22:4n6). Bei der Untersuchung des Plasmas der atopischen Hunde ermittelten sie einen signifikant höheren Gehalt der DGLA im

Vergleich zur Kontrollgruppe und werteten dies als Anzeichen für eine mögliche inadäquate  $\Delta 5$ -Desaturase-Aktivität. Die seltenen oder fehlenden Veränderungen bei der Untersuchung der Fettsäuren im Plasma können mit der eingeschränkten Eignung des Plasmas zur Feststellung von Metabolisierungsstörungen der PUFA begründet werden, was durch die in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse bestätigt wird.

#### 5.2.4.2 Gehalt der n3-Fettsäuren

Bei der Untersuchung der n3-Fettsäuren der Erythrozytenmembranen war in der vorliegenden Arbeit lediglich die C22:5n3 (DPA) bei den atopischen Hunden im Vergleich zu den gesunden Tieren signifikant erniedrigt. Die Bildung der DPA wird sowohl von der  $\Delta 5$ - als auch von der  $\Delta 6$ -Desaturase beeinflusst. Der niedrigere Gehalt dieser Fettsäure könnte mit einem Defekt eines oder beider dieser Enzyme in Zusammenhang stehen. Im Gegensatz zu den in der vorliegenden Arbeit gefundenen Veränderung des Gehaltes der DPA ermittelten SAEVIK et al. (2002) im Serum atopischer Hunde signifikant höhere Gehalte der EPA und der DPA. Auch SCOTT et al. (1997) fand bei Hunden, die an CAD erkrankt waren und nicht auf eine entsprechende Fettsäurendiät mit einer Besserung des klinischen Bildes reagierten (sogenannte Nonresponder) im Vergleich zu den Plasmafettsäuren der Responderhunde vor Beginn der Fütterung ebenfalls erhöhte Gehalte der DPA vor. Die EPA war jedoch bei den Nonrespondern erniedrigt.

Durch den sehr niedrigen Anteil der n3-Fettsäuren am Gesamtgehalt der Fettsäuren des Plasmas ist die biologische Relevanz eines signifikanten Ergebnisses bei den n3-Fettsäuren möglicherweise gering. Auch kann der bei sehr niedrigen Werten größere Messfehler zu fehlenden Signifikanzen von Veränderungen führen. Die Gehalte der n3-Fettsäuren sind im Gegensatz zu den n6-Fettsäuren oft < 1% der Gesamtfettsäuren (BIAGI et al. 1993). Auch TAUGBOL et al. (1998) stellten in ihrer Studie nur sehr geringe Gehalte der n3-Fettsäuren im Plasma von Hunden fest.

Eine weitere Ursache für den deutlichen Unterschied in der Zahl der gefundenen Veränderungen zwischen den n6- und den n3-Fettsäuren könnte die bevorzugte Metabolisierung der n3-Fettsäuren darstellen (ZIBOH und MILLER 1990), so dass Defizite in der Aktivität der Desaturasen hier möglicherweise nicht erkennbar sind. Auch könnte der geringere Gehalt der essentiellen n3-Fettsäuren der Grund für einen bevorzugten Einbau in die Membranen sein, um Defiziten dieser vorzubeugen. SEIDEL (2004) konnte in ihrer Untersuchung nach der erhöhten Zufuhr verschiedener n3- und n6-Fettsäuren zu der Zellkultur einer caninen Mastocytomzelllinie eine Konzentrationserhöhung der entsprechenden Fettsäuren in den Mastocytomzellen (LA 4,9-fach, GLA 6,9-fach, AA 6-fach, ALA 9,3-fach, EPA 6,5-fach, DHA 8,4-fach) ermitteln. Da die Konzentrationserhöhung der n3-Fettsäuren (ALA, EPA und DHA) in dieser Untersuchung deutlich höher war als die der n6-Fettsäuren LA, GLA, AA), würde dieses Ergebnis zumindest in vitro für einen bevorzugten Einbau der n3-Fettsäuren in Membranen sprechen.

In humanmedizinischen Studien ermittelte Ergebnisse in bezug auf die n3-Fettsäuren sind ebenfalls sehr unterschiedlich. So fanden LINDSKOV und HOLMER (1992) weder im Plasma noch in den Membranen der Monozyten und Erythrozyten signifikante

Veränderungen der n3-Fettsäuren bei Patienten mit AD. Keine Veränderungen der n3-Fettsäuren ermittelten auch die Untersucher des Nabelschnurblutes von Säuglingen mit einem hohem Risiko einer atopischen Erkrankung (BECK et al. 2000).

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von LINDSKOV und HOLMER (1992) haben OLIWIEKI et al. (1991) bei ihrer Untersuchung von EM atopischer Patienten veränderte Fettsäuren in Form signifikant niedrigerer Gehalte der EPA und der DPA gefunden. Sowohl die EPA, als auch die DPA werden durch die Metabolisierung der ALA über die  $\Delta 6$ - und die  $\Delta 5$ -Desaturase gebildet und deren erniedrigter Gehalt könnte für eine Aktivitätsminderung dieser Enzyme bei Atopikern sprechen. Bei den Plasmafettsäuren fanden sich wie bei den Ergebnissen der anderen Untersuchungen keine Veränderungen. Einen signifikant niedrigeren Gehalt der EPA in den EM atopischer Patienten fanden auch BIAGI et al. (1993). Die ALA war bei den Atopikern dieser Studie erniedrigt.

In den humanmedizinischen Arbeiten wurden, wie in der vorliegenden Arbeit, auch nur wenige Veränderungen der n3-Fettsäuren ermittelt. Einheitlich sind hier die Aussagen zu den fehlenden Veränderungen bei den Plasmafettsäuren.

Bei den Untersuchungen zu den n3-Fettsäuren ist es ebenfalls wichtig, dass einheitliche diätetische und Umweltbedingungen bei den untersuchten Patienten vorliegen, um relevante Ergebnisse erzielen zu können. So fehlen in der aufgeführten Literatur Hinweise auf entsprechende Ausschlusskriterien.

#### 5.2.4.3 Summe der n6- bzw. n3- Fettsäuren und Verhältnis der Fettsäurenfamilien zueinander

Während die Summe der n6-Fettsäuren in den EM bei den an CAD erkrankten Hunden in der vorliegenden Arbeit signifikant niedriger war ( $P = 0,003$ ), ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Summe der n3-Fettsäuren, bzw. im Verhältnis der Fettsäurenfamilien zueinander. Die Summe der n3-Fettsäuren zeigte jedoch eine Tendenz zu niedrigeren Werten in der atopischen Gruppe ( $P = 0,100$ ). Der erniedrigte Gehalt der n6-Fettsäuren bei den atopischen Hunden könnte für einen stärkeren Verbrauch dieser durch das Entzündungsgeschehen sprechen. Die Summe der n6-Fettsäuren war auch in der humanmedizinischen Studie von BECK et al. (2000) im Nabelschnurblut von Säuglingen signifikant erniedrigt. Keine Auffälligkeit zeigte in dieser Arbeit die Summe der n3-Fettsäuren. Eine mögliche Ursache für das unveränderte Verhältnis zwischen den n6- und n3-Fettsäuren in der vorliegenden Arbeit ist, trotz fehlender Signifikanz, die tendenziell erniedrigte Summe der n3-Fettsäuren. BIAGI et al. (1993) fanden ebenfalls keinen Unterschied zwischen dem in EM bestimmten n6/n3-Verhältnis von atopischen Kindern im Vergleich zur Kontrollgruppe. Aussagen über die Summe der Fettsäurefamilien wurden in dieser Studie nicht getroffen.

Eine geringere Resorption der essentiellen Fettsäuren LA und ALA als Ursache für einen niedrigeren Gehalt der n6- bzw. der n3-Fettsäuren ist bei Betrachtung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unwahrscheinlich, da beide Hundegruppen im Plasma keinen signifikanten Unterschied bei diesen Fettsäuren aufwiesen.

Bei der Untersuchung der Plasmafettsäuren in der vorliegenden Arbeit ergaben sich im Gegensatz zu den Ergebnissen der EM keine signifikanten Unterschiede in der Summe der

n6- und n3-Fettsäuren, sowie im Verhältnis dieser Fettsäurenfamilien zueinander. Auch SAEVIK et al. (2002) fanden bei ihrer Studie keine signifikanten Unterschiede bei den Summen der beiden Fettsäurefamilien im Serum atopischer Hunde. Hier ergab sich jedoch ein geringeres Verhältnis der n6- zu den n3-Fettsäuren, bei einer nichtsignifikant niedrigeren Summe der n6-Fettsäuren bei den atopischen Hunden. Die Untersucher beschrieben eine mögliche Beeinflussung dieser Gehalte durch die Fütterung und treffen wegen der unbekannten Fettsäuresupplementierung der kommerziellen Futtermittel verschiedener Hersteller keine Aussagen zu diesem Ergebnis.

#### 5.2.4.4 Veränderte Fettsäuren in den einzelnen Phospholipidfraktionen

Es existieren nur wenige Studien über die Fettsäurezusammensetzung von Membranen, welche die Untersuchung der einzelnen Phospholipidfraktionen mit einbeziehen. Oft beschränken sich diese Untersuchungen auf die Präparation von PC und PE, da sie die größten Fraktionen innerhalb der Membranphospholipide darstellen. Eine Untersuchung der Phospholipidfraktionen der EM atopischer Hunde ist in der Literatur bislang nicht zu finden. In der vorliegenden Arbeit wurden die umfangreichsten und häufigsten Veränderungen in der Phosphatidylcholinfraktion ermittelt. Die in den Fraktionen veränderten Fettsäuren wiesen hierbei erwartungsgemäß die gleichen Veränderungen auf wie in den gesamten Membranlipiden. Zusätzlich war die LA im PC bei den an CAD erkrankten Hunden signifikant erhöht ( $P = 0,023$ ). Dieses Ergebnis könnte ein Hinweis auf eine Kumulation dieser Fettsäure aufgrund einer verminderten Aktivität der  $\Delta 6$ -Desaturase sein. LINDSKOV und HOLMER (1991) untersuchten in ihrer humanmedizinischen Arbeit lediglich das PC und das PE der mononukleären Zellmembranen und bestimmten hier einen signifikant erhöhten Gehalt der LA im PE bei Patienten mit AD. Im Gegensatz hierzu konnte in der vorliegenden Arbeit kein signifikanter Unterschied des Gehaltes der LA im PE gefunden werden. Ein direkter Vergleich ist hier jedoch nicht möglich, da es sich bei den untersuchten Zellen um einen anderen Zelltyp handelt.

Weiterhin wurden in der vorliegenden Arbeit signifikant niedrigere Gehalte der AA, der Adrensäure und der DPA im PC bei den atopischen Hunden gemessen. Die DPA war auch in den einzelnen Fraktionen die einzige Fettsäure der n3-Familie, bei welcher eine Veränderung ermittelt werden konnte. PS wies einen signifikant niedrigeren Gehalt der GLA und eine signifikante Erhöhung der DGLA in der Gruppe der Atopiker auf. Eine deutlich signifikante Erhöhung der DGLA wurde auch im SM gefunden.

Die Untersuchung der Fettsäuren einzelner Fraktionen in den Erythrozytenmembranen von Kindern mit Chronischer Juveniler Arthritis ergab, dass die stärksten Veränderungen, wie auch in der vorliegenden Arbeit, im PC auftraten, während geringere Störungen im PE, PS und SM nachgewiesen wurden (GORSKA et al. 2000). Die Erklärung der Untersucher, dass sich die umfangreichsten Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung in den dominanten Fraktionen finden, trifft in bezug auf das PC auch in der vorliegenden Arbeit zu. Diese Feststellung würde aber auch Veränderungen im PE voraussetzen, die in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht ermittelt wurden.

Der gefundene signifikant niedrigere Gehalt der AA ( $P = 0,001$ ) im PC in der vorliegenden Arbeit könnte, neben einem Desaturasedefekt, auch für eine Bevorzugung dieser Fraktion

von der cPLA<sub>2</sub>α sprechen. Der signifikant niedrigere Gehalt der AA ( $P = 0,001$ ) im PC in der vorliegenden Arbeit könnte, neben einem Desaturasedefekt, auch für eine Bevorzugung dieser Fraktion von der cPLA<sub>2</sub>α sprechen. DIEZ et al. (1994) beobachteten jedoch in ihrer Studie mit monozytären Membranen, dass die untersuchten drei Phospholipasen (zwei 14kDa PLA<sub>2</sub>-Isozyme und die 110 kDa PLA<sub>2</sub>) aus den Phospholipidklassen, welche den Hauptanteil an AA aufweisen (PE, PC und PI), diese Fettsäure auch freisetzen. Die freigesetzten Mengen der AA verhielten sich hierbei proportional zum Gehalt der AA in den Phospholipiden. BURDGE et al. (1995) untersuchten die Spezifität der cPLA<sub>2</sub> und nutzten hierzu Phospholipid-Vesikel von Rattenleberzellen. Die Untersucher wiesen im Gegensatz zu der Arbeit von DIEZ et al. (1994) eine Bevorzugung des PE durch dieses cytosolische Enzym nach.

### 5.3 Schlussfolgerung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in der vorliegenden Untersuchung zur Fettsäurenzusammensetzung der EM atopischer und gesunder Hunde ein Defekt bei der Metabolisierung der n6-Fettsäuren durch die  $\Delta 6$ - und der  $\Delta 5$ -Desaturase vorzuliegen scheint. Eine Ursache für fehlende, vergleichbare Ergebnisse bei den n3-Fettsäuren könnte der geringere Gehalt dieser in den EM sprechen.

Die vorliegende Untersuchung der Phospholipidfraktionen der EM atopischer und gesunder Hunde, unter Beachtung verschiedener Umwelteinflüsse, wie z.B. der Fütterung, ist bis heute einzigartig. Eine vergleichbare Untersuchung bei Hunden ist in der Literatur derzeit noch nicht zu finden. Eine größere Anzahl von Hundepaaren würde die Signifikanz der Ergebnisse noch unterstreichen. Mehr Hundepaare in einer Studie könnte man durch die Einbeziehung mehrerer Kliniken oder Praxen und damit auch mehrerer Untersucher erreichen. Die einheitliche Anwendung der Auswahlkriterien wäre dann jedoch nicht mehr gegeben. Interessante Ergebnisse könnte auch die Ermittlung von Fettsäurenveränderungen weiterer Blutzellen, wie z.B. die der Monozyten liefern. Es wird jedoch, aufgrund der geringen Probenmengen, die von diesen Zellen in vivo zu gewinnen sind, kaum genügend Material für eine vergleichbare Untersuchung zur Verfügung stehen.

Bezüglich der Plasmagehalte der Triacylglycerine, des Cholesterols und des Vitamin E konnten keine Unterschiede zwischen den atopischen und den gesunden Hunden ermittelt werden, so dass diese Parameter möglicherweise keine Bedeutung bei der Pathogenese, sowie der Diagnostik der CAD besitzen. Aber auch hier muß die Anzahl der Probanden kritisch betrachtet werden. Es wäre auch möglich, dass die Anwendung eines Grundfutters ohne hohe Supplementierung des Vitamin E doch veränderte Gehalte dieses Vitamins bei atopischen Hunde aufzeigt, da nur ein begrenzter Vorrat zur Verfügung stehen würde.

Die Veränderungen in den Fettsäuren des Plasmas entsprechen in Zahl und Umfang nicht denen, die in den EM gefunden wurden. Dies spricht für eine bessere Eignung der Zellmembranen zur Untersuchung des Fettsäurenmetabolismus.

Die bei den Fettsäuren der atopischen Hunde gefundenen Veränderungen lassen die Vermutung zu, dass durch den diätetischen Einsatz ausgesuchter Fettsäuren ein positiver therapeutischer Effekt möglich ist.



## 6 Zusammenfassung

Annett Zimmermann

### **Vergleichende Untersuchungen der Fettsäurezusammensetzung in Erythrozytenmembranen und im Plasma von atopischen und gesunden Hunden**

Veterinär-Physiologisch-Chemisches Institut  
und Kleintierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im Juni 2005

Stichwörter: Atopische Dermatitis, Erythrozyten, mehrfach ungesättigte Fettsäuren, Fettsäurenmetabolismus, Desaturasen, Ghosts

94 Seiten, 12 Abbildungen, 26 Tabellen, 191 Literaturangaben, 23 Seiten Anhang mit 16 Tabellen

Die canine atopische Dermatitis (CAD) ist eine in der Praxis häufig vorkommende entzündliche Hauterkrankung des Hundes. Für ihr Auftreten sind genetische Defekte, immunologische Faktoren und Umwelteinflüsse (Haltungsbedingungen, Fütterung) ursächlich von Bedeutung. Neben diesen Faktoren lassen Untersuchungen über den erfolgreichen therapeutischen Einsatz mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFA) der n6- und n3-Fettsäurefamilien vermuten, dass der CAD, wie der atopischen Dermatitis des Menschen, eine verminderte Umwandlung der essentiellen Fettsäuren (Linol- und Linolensäure) in höher ungesättigte Fettsäuren als ein weiterer Pathogenesemechanismus zugrunde liegen könnte. Eine Schlüsselfunktion dieser Metabolisierungsprozesse übernehmen die  $\Delta 5$ - und die  $\Delta 6$ -Desaturasen. Außerdem besitzen PUFA Bedeutung für das Krankheitsbild der CAD, indem das zelluläre Fettsäuremuster die Eigenschaften der epidermalen Lipidbarriere und die Freisetzung von Entzündungsmediatoren beeinflusst.

Studien über die Fettsäurezusammensetzung des Serums von an CAD leidenden Hunden erbrachten jedoch keine Hinweise auf eine Störung des Fettsäurestoffwechsels, daher erschien die Untersuchung des Fettsäuremusters von Erythrozytenmembranen geeigneter, da sie durch ihre begrenzte Lebensdauer und den eingeschränkten Metabolismus die diätetischen, endokrinen und Umwelteinflüsse von 120 Tagen widerspiegeln. Durch die Untersuchung von einem an Atopie erkrankten und einem gesunden Hund, die zusammen in einem Haushalt lebten und das gleiche Futtermittel erhielten, war es möglich, einheitliche diätetische und Umwelteinflüsse zu schaffen. Es waren insgesamt 16 Hunde (acht Hundepaare) verschiedener Rassen und verschiedenen Geschlechts an der Studie beteiligt.

Nach der speziellen Hautdiagnostik wurde für die Untersuchung des Fettsäuremusters jedem der Hunde venöses Blut entnommen. Aus den Erythrozytenmembranen erfolgte die Extraktion der Lipide. Diese wurden mittels Dünnschichtchromatographie in die Fraktionen Sphingomyelin, Phosphatidylcholin, Phosphatidylserin, Phosphatidylethanolamin und Cholesterol aufgetrennt und deren Fettsäuremuster gaschromatographisch bestimmt. Daneben wurden die Gesamtlipid-Fettsäuren Plasmas gaschromatographisch gemessen.

Es ergaben sich deutliche Veränderungen bei den Fettsäuren der n6-Familie. Die Werte der Arachidonsäure (C20:4n6) und der Gammalinolensäure (C18:3n6) waren in den

Erythrozytenmembranen der atopischen Hunde signifikant niedriger als die der gesunden Hunde. Die Dihomogammalinolensäure (C20:3n6) wies bei den atopischen signifikant höhere Werte auf als bei den gesunden Hunden. Bei den n3-Fettsäuren war lediglich die Docosapentaensäure (C22:5n3) verändert. Hier wurden bei den atopischen Hunden signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu den gesunden Hunden ermittelt. Die stärksten Veränderungen der Fettsäuregehalte fanden sich im Phosphatidylcholin, das neben dem Phosphatidylethanolamin die größte Fraktion bildete. Hinsichtlich der Fettsäuren des Plasmas wurde lediglich ein verringerter Gehalt der Dihomogammalinolensäure bei den atopischen Hunden ermittelt. Die Erythrozytenmembranen scheinen somit sehr gut den veränderten Fettsäurenmetabolismus atopischer Hunde zu reflektieren.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse für eine Störung des Metabolismus der PUFA bei atopischen Hunden im Sinne einer möglicherweise verringerten Aktivität der  $\Delta 6$ - und der  $\Delta 5$ -Desaturasen, was eine Erklärung für die beobachteten positiven Effekte von diätetischen n3- und n6-Fettsäuren auf das klinische Bild der CAD liefert.

## 7 Summary

Annett Zimmermann

### **Fatty acid composition of erythrocyte ghosts and plasma from atopic and normal dogs**

Institute of Physiological Chemistry and Department of Small Animal Medicine,  
Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in June 2005

Keywords: atopic dermatitis, erythrocyte, polyunsaturated fatty acids, fatty acid metabolism, desaturases, ghost

94 pages, 12 figures, 26 tables, 191 references, 23 pages appendix with 16 tables

Canine atopic dermatitis (CAD) is an inflammatory skin disease of dogs frequently observed in practice. CAD has a genetic background, immunological and environmental factors (husbandry, feeding) also play a role. Besides these factors, studies on the successful use of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the n3 and n6 family suggest that in CAD, like in human atopic dermatitis, a reduced metabolism of essential fatty acids (linoleic and linolenic acids) to higher unsaturated fatty acids could form the basis of another pathogenic mechanism. The key enzymes for these metabolic processes are the  $\Delta 6$ - and  $\Delta 5$ -desaturases. Furthermore, PUFA are important for the clinical picture as the pattern of fatty acids influences the properties of the epidermal lipid barrier and the release of inflammatory mediators.

Studies concerning the fatty acid composition in serum of dogs suffering from CAD did not yield evidence of a disorder in the fatty acid metabolism. Therefore studies of the fatty acid composition in erythrocyte membranes seem more suitable, as they have a limited lifespan and a restricted metabolism that reflects a period of 120 days. By examining a dog suffering from CAD and a healthy dog living in the same household and receiving the same feeding, it was possible to correct for dietetic and environmental influences. In summary, sixteen dogs, different in breed and sex were involved in this study.

After dermatological diagnostics venous blood was drawn from each dog to examine the fatty acid composition. The lipids were extracted from the erythrocyte membranes and separated into sphingomyeline, phosphatidylcholine, phosphatidylserine, phosphatidylethanolamine and cholesterol fractions and their fatty acid composition was determined by gas liquid chromatography (GLC). Total lipid fatty acids of plasma were also determined by GLC.

Distinct changes in the n6 fatty acids were observed. Arachidonic (C20:4n6) and gammalinolenic acid (C18:3n6) of the erythrocyte ghosts were significantly lower in atopic than in healthy dogs. Dihomogammalinolenic acid (C20:3n6) showed a significantly higher value in the atopic dogs than in the healthy dogs. Of the n3 fatty acids, only the value of docosapentaenoic acid (C22:5n3) was changed. In atopic dogs a significantly lower value was determined compared to healthy dogs. The most extensive changes in fatty acid

composition were found in phosphatidylcholine, forming the largest fraction besides phosphatidylethanolamine. Regarding plasma total lipid fatty acids, a reduced concentration of dihomogamalinolenic acid in atopic dogs was determined. Therefore, erythrocyte membranes seem to reflect fatty acid metabolism of atopic dogs.

Overall, the discovered changes support the hypothesis of a disorder in fatty acid metabolism of atopic dogs, namely a reduced activity of the  $\Delta 6$ - and  $\Delta 5$ -desaturases. This conclusion may serve as an explanation for the positive effects of dietetic n3 and n6 fatty acids on the clinical picture of CAD.

## 8 Literaturverzeichnis

Akdis CA, Blaser K. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy*. 2000;55:522-30.

Antille C, Sorg O, Lubbe J, Saurat JH. Decreased oxidative state in non-lesional skin of atopic dermatitis. *Dermatology*. 2002;204:69-71.

Baker E. Management of allergic disease by hyposensitization. *J Am Vet Med Assoc*. 1969;154:491-4.

Bando N, Yamanishi R, Terao J. Inhibition of immunoglobulin E production in allergic model mice by supplementation with vitamin E and beta-carotene. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003;67:2176-2182.

Barnes PJ. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci*. 1998;94:557-72.

Beck M, Zelczak G, Lentze MJ. Abnormal fatty acid composition in umbilical cord blood of infants at high risk of atopic disease. *Acta Paediatr*. 2000;89:279-84.

Behrend EN, Kemppainen RJ. Glucocorticoid therapy - pharmacology, indications, and complications. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1997;27:187-213.

Bendich A, Machlin LJ. Vitamin-E supplementation - reply. *Am J Clin Nutr*. 1989;49:719.

Berardesca E, Barbareschi M, Veraldi S, Pimpinelli N. Evaluation of efficacy of a skin lipid mixture in patients with irritant contact dermatitis, allergic contact dermatitis or atopic dermatitis: a multicenter study. *Contact Dermatitis* 2001;45:280-85.

Biagi PL, Hrelia S, Celadon M, Turchetto E, Masi M, Ricci G, Specchia F, Canella MV, Horrobin DF, Bordoni A. Erythrocyte membrane fatty acid composition in children with atopic dermatitis compared to age-matched controls. *Acta paediatr*. 1993;82:789-90

Bigler B, Hämmerling R, Scherer O, DeBoer J. Messung von allergenspezifischem IgE beim Hund mit einem in-vitro-Test mit monoklonalen anti-IgE-Antikörper. Vergleich mit dem Intrakutantest und erste Ergebnisse der Hyposensibilisierung. *Kleintierpraxis* 1996;41:643-50.

Bjorneboe A, Soyland E, Bjorneboe GEA, Rajka G, Drevon CA. Effect of dietary supplementation with eicosapentaenoic acid in the treatment of atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 1987;117:463-9.

Bodner C, Godden D, Brown K, Little J, Ross S, Seaton A. Antioxidant intake and adult-onset wheeze: a case-control study. *Eur Resp J*. 1999;13:22-30.

- Bond R, Lloyd DH. A double-blind comparison of olive oil and a combination of evening primrose oil and fish oil in the management of canine atopy. *Vet Rec.* 1992;131:558-60.
- Bond R, Lloyd DH. Combined treatment with concentrated essential fatty acids and prednisolone in the management of canine atopy. *Vet Rec.* 1994;134:30-2.
- Bousquet J, Lockey R, Malling HJ. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases - a WHO position paper. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:558-62.
- Brown WR, Hansen AE. Arachidonic and linolic acid of the serum in normal and eczematous human subjects. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1937;36:113-7.
- Burdge GC, Creaney A, Postle AD, Wilton DC. Mammalian secreted and cystolic phospholipase A2 show different specificities for phospholipid molecular species. *Int J Biochem Cell Biol.* 1995;27:1027-32.
- Burr GO, Burr MM. On the nature of the fatty acids essential in nutrition. *J Biol Chem.* 1930;86:587-621.
- Burton GW, Ingold KU. Vitamin-E - Application of the principles of physical organic chemistry to the exploration of its structure and function. *Acc Chem Res.* 1986;19:194-201.
- Byrne KP, Campbell KL, Davis CA, Schaeffer DJ, Troutt HF. The effects of dietary n-3 vs. n-6 fatty acids on ex-vivo LTB4 generation by canine neutrophils. *Vet Dermatol.* 2000;11:123-31.
- Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA. Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr.* 2002;87:31-48.
- Campbell KL, Dorn GP. Effects of oral sunflower oil and olive oil on serum and cutaneous fatty acid concentrations in dogs. *Res Vet Sci.* 1992;53:172-8.
- Centanni S, Santus P, Di Marco F, Fumagalli F, Zarini S, Sala A. The potential role of tocopherol in asthma and allergies - modification of the leukotriene pathway. *Biodrugs.* 2001;15:81-6.
- Chalmers SA, Medleau L. An update on atopic dermatitis in dogs. *Vet Med.* 1994;89:326-41.
- Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxid metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev.* 1979;59:527-605.
- Chesney CJ. Measurement of skin hydration in normal dogs and in dogs with atopy or a scaling dermatosis. *J Small Anim Pract.* 1995;36:305-9.
- Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferators-activated receptors (PPARs): Nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm res.* 2000;49:497-505.

Codner EC, Lessard P. Comparison of intradermal allergy test and Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay in dogs with allergic skin disease. *J Am Vet Med Assoc.* 1993;202:739-43.

Cook CP, Scott DW, Miller WH, Kirker JE, Cobb SM. Treatment of canine atopic dermatitis with cetirizine, a second generation antihistamine: a single-blinded, placebo-controlled study. *Can Vet J.* 2004;45:414-7.

Crow DW, Marsella R, Nicklin CF. Double-blinded, placebo-controlled, cross-over pilot study on the efficacy of zileuton for canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2001;12:189-95.

Deboer DJ. Survey of intradermal skin testing practices in North-America. *J Am Vet Med Assoc.* 1989;195:1357-63.

Deboer DJ, Ewing KM, Schultz KT. Production and characterization of mouse monoclonal antibodies directed against canine IgE and IgG. *Vet Immunol Immunopathol.* 1993;37:183-99.

Deboer DJ, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXI): antihistamine pharmacotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:323-9.

Deboer DJ, Schafer JH, Salsbury CS, Blum JR, Beale KM, Vitale CB, Muse R, Moriello KA, Garfield RA, Keefe TJ, McArthur TR. Multiple-center study of reduced-concentration triamcinolone topical solution for the treatment of dogs with known or suspected allergic pruritus. *Am J Vet Res.* 2002;63:408-13.

Diez E, Chilton FH, Stroup G, Mayer RJ, Winkler JD, Fonteh AN. Fatty acid and phospholipids selectivity of different phospholipase A2 enzymes studied by using a mammalian membrane as substrate. *Biochem J.* 1994;304:1023.

Derer M, Morrison-Smith G, De Weck AL. Monoclonal anti-IgE antibodies in the diagnosis of dog allergy. *Vet Dermatol.* 1998;9:185-90.

deWeck AL, Mayer P, Stumper B, Schiessl B, Pickart L. Dog allergy, a model for allergy genetics. *Int Arch Allergy Immunol.* 1997;113:55-7.

deWeck A, Derer M, Mayer P, Stumper B, Schöni B, Hämmerling R, Kristensen F, Itaya H, Yamasita Y, Hasegawa A. Rückblick und Perspektiven der Allergiediagnostik beim Hund: Ein neues serologisches Verfahren zur Bestimmung des allergen-spezifischen IgE mit Streifentests. *Prakt Tierarzt.* 1998;79:6-23.

Eder K. Untersuchungen zur Bestimmung der Phospholipide in Erythrozytenmembranen und deren Fettsäurezusammensetzung [Dissertation oec. troph.]. München: Techn. Univ. München; 1992.

Eder K, Reichlmayrlais AM, Kirchgessner M. Simultaneous determination of amounts of major phospholipid classes and their fatty acid composition in erythrocyte membranes using

High-Performance Liquid-Chromatography and Gas-Chromatography. *J Chromatogr.* 1992;598:33-42.

Edmonds MJ. Preliminary investigations into the use of allergy skin testing solutions and desensitizing vaccines in dogs. *J Small Anim Pract.* 1980;21:153-67.

Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, Cannon JG, Rogers TS, Klempner MS, Weber PC. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor by mononuclear cells. *N Engl J Med.* 1989;320:265-71.

Engen RL, Clark CL. High-performance liquid chromatography determination of erythrocyte membrane phospholipid composition in several animal species. *Am J Vet Res.* 1990;51:577-80.

Fisherman EW, Rosset D, Cohen GN. Serum triglyceride and cholesterol levels and lipid electrophoretic patterns in intrinsic and extrinsic allergic states. *Ann Allergy.* 1977;38:46-53.

Foster AP, Littlewood JD, Webb P, Wood JLN, Rogers K, Shaw SE. Comparison of intradermal and serum testing for allergen-specific IgE using a Fc epsilon RI alpha-based assay in atopic dogs in the UK. *Vet Immunol Immunopathol* 2003;93:51-60.

Fuhrmann H, Sallmann HP. Alpha-Tocopherol and Phospholipase A(2) in liver and brain of chicks posthatching - the influence of dietary-fat and vitamin-E. *Ann Nutr Metabol.* 1995;39:302-9.

Gil A. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomed Pharmacoth.* 2002;56:388-96.

Goldman R, Ferber E, Zort U. Reactive oxygen species are involved in the activation of cellular Phospholipase-A2. *FEBS Lett.* 1992;309:190-2.

Gorska A, Nawrocki A, Urban M, Florys B. Composition of phospholipid fatty acids in erythrocyte membranes of children with chronic juvenile arthritis: clinical and biochemical correlations. *Med Sci Monit.* 2000;6:30-9.

Granot E, Golan D, Berry EM. Breast-fed and formula-fed infants do not differ in immunocompetent cell cytokine production despite differences in cell membrane fatty acid composition. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1202-5.

Griffin CE, Deboer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:255-69.

Griffin CE, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIV): allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:363-83.

Gross TL, Walder EJ, Ihrke PJ. Subepidermal bullous dermatosis due to topical corticosteroid therapy in dogs. *Vet Dermatol.* 1997;8:127-31.



- Guaguere E, Steffan J, Olivry T. Cyclosporin A: a new drug in the field of canine dermatology. *Vet Dermatol.* 2004;15:61-74.
- Gueck T, Aschenbach JR, Fuhrmann H. Influence of vitamin E on mast cell mediator release. *Vet Dermatol.* 2002;13:301-5.
- Halliwell REW, Schwartzmann R. Atopic disease in dog. *Vet Rec.* 1971;89:209-14.
- Halliwell REW, Gilbert SM, Lian TM. Induced and spontaneous IgE antibodies to *Dermatophagoides farinae* in dogs and cats: evidence of functional heterogeneity of IgE. *Vet Dermatol.* 1998;9:179-84.
- Halliwell REW, Deboer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (III): the role of antibodies in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:159-67.
- Hamann F, Harder A, Brunnberg L. Study on canine atopy. 2. Allergens. *Kleintierpraxis.* 1996;41:33-47.
- Harvey RG. A blinded, placebo-controlled study of the efficacy of borage seed oil and fish oil in the management of canine atopy. *Vet Rec.* 1999;144:405-7.
- Hämmerling R, Kalveram C, Kalveram K. In-vitro-Vergleich des Allergengehalts von Hauttestlösungen verschiedener Anbieter im veterinärmedizinischen Bereich. *Kleintierpraxis* 1994;39:684-7.
- Hämmerling R, Leidinger K. Die atopische Dermatitis des Hundes - Pathomechanismen und Vergleich der Diagnostik mit Intrakutantesten und einem ELISA mit einem monoklonalen Anti-IgE-Antikörper. *Prakt Tierarzt.* 1998;79:509-21.
- Heishi M, Imai Y, Katayama H, Hashida R, Ito M, Shinagawa A, Sugita Y. Gene expression analysis of atopic dermatitis like skin lesions induced in NC/Nga mice by mite antigen stimulation under specific pathogen free conditions. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003;132:355-63.
- Hill PB, Deboer DJ. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IV): Environmental allergens. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:169-86.
- Hillier A, Griffin CE. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (I): Incidence and prevalence. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:147-51.
- Hites MJ, Kleinbeck ML. Effect of immunotherapy on the serum concentration of allergen-specific IgG antibodies in dog sera. *Vet Immunol Immunopathol.* 1989; 22:39-51.
- Horrobin DF, Morse PF. Evening primrose oil and atopic eczema. *Lancet.* 1995;345:260-1.
- Hughes DA, Pinder AC, Piper Z, Johnson IT, Lund EK. Fish oil supplementation inhibits the expression of major histocompatibility complex class II molecules and adhesion molecules on human monocytes. *Am J Clin Nutr.* 1996;63:267-72.

Jackson HA, Miller HRP, Halliwell REW. Canine leucocyte histamine release: Response to antigen and to anti-IgE. *Vet Immunol Immunopathol.* 1996;53:195-206.

Kamal-Eldin A, Appelkvist EL. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids.* 1996;31:671-98.

Kelly FJ, Mudway I, Blomberg A, Frew A, Sandström T. Altered lung antioxidant status in patients with mild asthma. *Lancet.* 1999;354:482-3.

Kliwer S, Sundseth S, Jones S, Brown PJ, Wisely GB, Koble CS, Devchand P, Wahli W, Willson TM, Lenhard JM, Lehmann JM. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  and  $\gamma$ . *Proc Natl Acad Sci.* 1997;94:4318-23.

Koch HJ, Peters S. 207 Intrakutantests bei Hunden mit Verdacht auf atopische Dermatitis. *Kleintierpraxis.* 1994;39:61-4.

Kolb E. Verwertung und Anwendung von Vitaminen bei Haustieren. La Roche AG, 5. Aufl., 1996.

Kraft W, Dürr UM. Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Schattauer-Verlag New York-Stuttgart, 5. Aufl., 1999.

Kuriyama K, Shimizu T, Horiguchi T, Watabe M, Abe Y. Vitamin E ointment at high dose levels suppresses contact dermatitis in rats by stabilizing keratinocytes. *Inflamm Res.* 2002;51:483-9.

Leung DY, Hanifin JM, Charlesworth EN, Li JT, Bernstein IL, Berger WE, Blessing-Moore J, Fineman S, Lee FE, Nicklas RA, Spector SL. Disease management of atopic dermatitis: a practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997;79:197-211.

Lian TM, Halliwell REW. Allergen-specific IgE and IgGd antibodies in atopic and normal dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 1998;66:203-23.

Lindskov R, Holmer G. Polyunsaturated fatty acids in plasma, red blood cells and mononuclear cell phospholipids of patients with atopic dermatitis. *Allergy.* 1992;47:517-21.

Lippert U, Krüger-Krasagakes S, Möller A, Kiessling U, Czarnetzki BM. Pharmacological modulation of IL-6 and IL-8 secretion by the H1-antagonist decarboethoxy-loratidine and dexamethasone by human mast and basophilic cell lines. *Exp Dermatol.* 1995;4:272-6.

Macdonald SM, Rafnar T, Langdon J, Lichtenstein LM. Molecular identification of an IgE dependent histamine releasing factor. *Science.* 1995;269:688-90.

Manku MS, Horrobin DF, Morse NL, Wright S, Burton JL. Essential fatty acids in the plasma phospholipids of patients with atopic eczema. *Br J Dermatol.* 1984;110:643-8.

- Marsella R, Nicklin CF. Double-blinded cross-over study on the efficacy of pentoxifylline for canine atopy. *Vet Dermatol.* 2000;11:255-60.
- Marsella R, Nicklin CF. Intradermal skin test reactivity to histamine and substance P is blunted in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2001;12:149-54.
- Marsella R, Nicklin CF. Investigation on the use of 0.3% tacrolimus lotion for canine atopic dermatitis: a pilot study. *Vet Dermatol.* 2002;13:203-10.
- Marsella R, Nicklin CF, Melloy C. The effects of capsaicin topical therapy in dogs with atopic dermatitis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over clinical trial. *Vet Dermatol.* 2002;13:131-9.
- Masuda K, Sakaguchi M, Fujiwara S, Kurata K, Yamashita K, Odagiri T, Nakao Y, Matsuki N, Ono K, Watari T, Hasegawa A, Tsujimoto H. Positive reactions to common allergens in 42 atopic dogs in Japan. *Vet Immunol Immunopathol.* 2000; 73:193-204.
- McKeever TM, Lewis SA, Smit H, Burney P, Britton J, Cassano PA. Serum nutrient markers and skin prick testing using data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:1398-402.
- Meydani M. Vitamin-E. *Lancet.* 1995;345:170-5.
- Miller CC, Tang W, Ziboh VA, Fletcher MP. Dietary supplementation with ethyl ester concentrates of fish oil (n-3) and borage oil (n-6) polyunsaturated fatty acids induces epidermal generation of local putative antiinflammatory metabolites. *J Invest Dermatol.* 1991;96:98-103.
- Morse PF, Horrobin DF, Manku MS, Stewart JC, Allen R, Littlewood S, Wright S, Burton J, Gould DJ, Holt PJ. Meta-analysis of placebo-controlled studies of the efficacy of Epogam in the treatment of atopic eczema - relationship between plasma essential fatty acid changes and clinical response. *Br J Dermatol* 1989;121:75-90.
- Mueller RS, Bettenay SV. Evaluation of the safety of an abbreviated course of injections of allergen extracts (rush immunotherapy) for the treatment of dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res.* 2001;62:307-10.
- Nagle TM, Torres SM, Horne KL, Grover R, Stevens MT. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial to investigate the efficacy and safety of a Chinese herbal product (P07P) for the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2001;12:265-74.
- National Research Council (NRC). Nutrient requirements of cats and dogs. National Academy Press, Washington D.C., 2003.
- Nesbitt GH. Canine allergic inhalant dermatitis - a review of 230 Cases. *J Am Vet Med Assoc.* 1978;172:55-60.

Nuttall TJ, Thoday KL, van den Broek AHM, Jackson HA, Sture GH, Halliwell REW. Retrospective survey of allergen immunotherapy in canine atopy. *Vet Rec.* 1998;143:139-42.

Olivry T, Moore PF, Affolter VK, Naydan DK. Langerhans cell hyperplasia and IgE expression in canine atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res.* 1996;288:579-85.

Olivry T, Naydan DK, Moore PF. Characterization of the cutaneous inflammatory infiltrate in canine atopic dermatitis. *Am J Dermatopathol.* 1997;19:477-86.

Olivry T, Dean GA, Tompkins MB, Dow JL, Moore PF. Toward a canine model of atopic dermatitis: amplification of cytokine-gene transcripts in the skin of atopic dogs. *Exp Dermatol.* 1999;8:204-11.

Olivry T, Dunston SM, Murphy KM, Moore PF. Characterization of the inflammatory infiltrate during IgE-mediated late phase reactions in the skin of normal and atopic dogs. *Vet Dermatol.* 2001;12:49-58.

Olivry T, Marsella R, Hillier A. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XXIII): are essential fatty acids effective? *Vet Immunol Immunopathol.* 2001b;81:347-62.

Olivry T, DeBoer DJ, Griffin CE, Halliwell RE, Hill PB, Hillier A, Marsella R, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis: forewords and lexicon. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001a;81:143-6.

Olivry T, Hill PB. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (IX): the controversy surrounding the route of allergen challenge in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001a;81:219-25.

Olivry T, Sousa CA. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIX): general principles of therapy. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001c;81:311-16.

Olivry T, Hill PB. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (VIII): is the epidermal lipid barrier defective? *Vet Immunol Immunopathol.* 2001b;81:215-18.

Olivry T, Rivierre C, Jackson HA, Murphy KM, Davidson G, Sousa CA. Cyclosporine decreases skin lesions and pruritus in dogs with atopic dermatitis: a blinded randomized prednisolone-controlled trial. *Vet Dermatol.* 2002;13:77-87.

Olivry T, Mueller RS. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of the pharmacotherapy of canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.* 2003;14:121-46.

Olivry T, Dunston SM, Rivierre C, Jackson HA, Murphy KM, Peters E, Dean GA. A randomized controlled trial of misoprostol monotherapy for canine atopic dermatitis: effects on dermal cellularity and cutaneous tumor necrosis factor-alpha. *Vet Dermatol.* 2003;14:37-46.

- Oliwiecki S, Burton JL, Elles K, Horrobin DF. Levels of essential and other fatty acids in plasma and red cell phospholipids from normal controls and patients with atopic eczema. *Acta Derm Venereol.* 1991;71:224-8.
- Oonishi T, Sakashita K, Ishioka N, Suematsu N, Shio H, Uyesaka N. Production of prostaglandins E-1 and E-2 by adult human red blood cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 1998;56:89-101.
- Packer L. Interactions among antioxidants in health and disease - vitamin-E and its redox cycle. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1992;200:271-76.
- Pala V, Krogh V, Muti P, Chajes V, Riboli E, Micheli A, Saadatian M, Sieri S, Berrino F. Erythrocyte membrane fatty acids and subsequent breast cancer: a prospective Italian study. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:1088-95.
- Park SJ, Ohya F, Yamashita K, Nishifuji K, Iwasaki T. Comparison of response to immunotherapy by intradermal skin test and antigen-specific IgE in canine atopy. *J Vet Med Sci.* 2000;62:983-8.
- Paterson S. Use of antihistamines to control pruritus in atopic dogs. *J Small Anim Pract.* 1994;35:415-9.
- Paterson S. Additive benefits of Efas in dogs with atopic dermatitis after partial response to antihistamine therapy. *J Small Anim Pract.* 1995;36:389-94.
- Pekiner B, Pennock JF. Fatty acids in plasma and red blood cell membranes in humans, rats, rabbits and dogs. *Biochem Mol Biol Int.* 1995;37:221-9.
- Pereira SL, Leonard AE, Mukerji P. Recent advances in the study of fatty acid desaturases from animals and lower eukaryotes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2003;68:97-106.
- Peters JE, Hirshman CA, Malley A. The Basenji-Greyhound dog model of asthma - leukocyte histamine release, serum IgE and airway response to inhaled antigen. *J Immunol.* 1982;129:1245-9.
- Quinn PJ. Is the distribution of alpha-tocopherol in membranes consistent with its putative functions? *Biochemistry (Mosc.).* 2004;69:58-66.
- Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. The 80th anniversary of vitamin E: beyond its antioxidant properties. *Biol Chem.* 2002;383:457-65.
- Romagnani S, Parronchi P, Delios MM, Romagnani P, Annunziato F, Piccinni MP, Manetti R, Sampognaro S, Mavilia C, De Carli M, Maggi E, Del Prete GF. An update on human Th1 and Th2 cells. *Int Arch Allergy Immunol.* 1997;113:153-6.
- Rosenthal MD. Fatty acid metabolism of isolated mammalian cells. *Prog Lipid Res.* 1987;26:87-124.

Rossetti RG, Seiler CM, Laposata M, Zurier RB. Differential regulation of human T-lymphocyte Protein-Kinase-C activity by unsaturated fatty acids. Clin Immunol Immunopathol. 1995;76:220-4.

Rosychuk RAW, Scott-Fieseler K. Nutritional management of canine atopy in 47 dogs: a retrospective study. In: Recent Advances in Canine and Feline Nutrition, Vol.III, edited by Reinhart GA, Carey DP, Wilmington, OH:Orange Frazer Press, 2000;287-91.

Roth HP, Kirchgessner M. Influence of different unsaturated fatty acids on stability of rat erythrocyte membranes. Ann Nutr Metabol. 1992;36:113-20.

Ryffel B, Donatsch P, Madorin M, Matter BE, Ruttimann G, Schon H, Stoll R, Wilson J. Toxicological evaluation of cyclosporin-A. Arch Toxicol 1983;53:107-41.

Saevik BK, Thoresen SI, Taugbol O. Fatty acid composition of serum lipids in atopic and healthy dogs. Res Vet Sci. 2002;73:153-8.

Saevik BK, Ulstein TL, Larsen HJS. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of allergen-specific IgE antibodies in dogs. Res Vet Sci. 2003;74:37-45.

Sainte-Laudy J, Prost C. Binding of canine anaphylactic antibodies on human basophils: application to canine allergy diagnosis. Vet Dermatol. 1996;7:185-91.

Sakai K, Okuyama H, Shimazaki H, Katagiri M, Torii S, Matsushita T, Baba S. Fatty acid compositions of plasma lipids in atopic dermatitis/asthma patients. Arerugi. 1994;43:37-43.

Schäfer L, Kragballe K. Abnormalities in epidermal lipid metabolism in patients with atopic dermatitis. J Invest Dermatol. 1991;96:10-5.

Schäfer T, Ruhdorfer S, Weigl L, Wessner D, Heinrich J, Döring A, Wichmann H-E, Ring J. Intake of unsaturated fatty acids and HDL cholesterol levels are associated with manifestations of atopy in adults. Clin Exp Allergy. 2003;33:1360-7.

Schick MP, Schick RO, Reinhart GA. The role of polyunsaturated fatty acids in the canine epidermis: normal structural and functional components, inflammatory disease state components, and as therapeutic dietary components. In: Recent Advances in Canine and Feline Nutritional Research, Vol.II, edited by Carey DP, Norton SA, Bolser SM, Wilmington, OH:Orange Frazer Press, 1996;267-75.

Schock BC, Young IS, Brown V, Fitch PS, Shields MD, Ennis M. Antioxidants and oxidative stress in BAL fluid of atopic asthmatic children. Pediatr Res. 2003;53:375-81.

Scott DW. Observations on canine atopy. J Am Anim Hosp Assoc. 1981;17:91-100.

Scott DW, Miller WH, Decker GA, Wellington JR. Comparison of the clinical efficacy of 2 commercial fatty acid supplements (Efavet(R) and Dvm Derm Caps(R)), evening primrose

oil, and cold water marine fish oil in the management of allergic pruritus in dogs - a double-blinded study. *Cornell Vet.* 1992;82:319-29.

Scott DW, Miller WH Jr, Griffin CE. Kapitel 9: Immunologisch bedingte Erkrankungen in: *Kleintierdermatologie*, 1995;368-97.

Scott DW, Miller WH, Reinhart GA, Mohammed HO, Bagladi MS. Effect of an omega-3/omega-6 fatty acid-containing commercial lamb and rice diet on pruritus in atopic dogs: Results of a single-blinded study. *Can J Vet Res.* 1997;61:145-53.

Scott DW, Miller WH, Senter DA, Cook CP, Kirker JE, Cobb SM. Treatment of canine atopic dermatitis with a commercial homeopathic remedy: a single-blinded, placebo-controlled study. *Can Vet J.* 2002;43:601-3.

Scott KC, Hill RC, Lewis DD, Boning AJ, Sundstrom DA. Effect of alpha-tocopheryl acetate supplementation on vitamin E concentrations in Greyhounds before and after a race. *Am J Vet Res.* 2001;62:1118-20.

Seidel A. Der Einfluss langkettiger mehrfach ungesättigter Fettsäuren auf die Fettsäurezusammensetzung einer caninen Mastocytomzelllinie [Dissertation med. vet]. Leipzig: Univ. Leipzig; 2004.

Senter DA, Scott DW, Miller WH. Treatment of canine atopic dermatitis with zafirlukast, a leukotriene-receptor antagonist: a single-blinded, placebo-controlled study. *Can Vet J.* 2002;43:203-6.

Simopoulos AP. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother.* 2002;56:365-79.

Smith WL. The eicosanoids and their biochemical mechanisms of action. *Biochem J.* 1989;259:315-24.

Smith WL. Prostanoid biosynthesis and mechanisms of action. *Am J Physiol.* 1992;263(2Pt2):F181-F191.

Sneddon AA, Wu HC, Farquharson A, Grant I, Arthur JR, Rotondo D, Choe SN, Wahle KV. Regulation of selenoprotein GPx4 expression and activity in human endothelial cells by fatty acids, cytokines and antioxidants. *Atherosclerosis.* 2003;171:57-65.

Sousa CA, Marsella R. The ACVD task force on canine atopic dermatitis (II): genetic factors. *Vet Immunol Immunopathol.* 2001;81:153-7.

Soyland E, Funk J, Rajka G, Sanberg M, Thune P, Rustad L, Helland S, Middelfart K, Odu S, Falk ES. Effect of dietary supplementation with very long chain n-3 fatty acids in patients with psoriasis. *N Engl J Med.* 1993;328:1812-6.

Soyland E, Funk J, Rajka G, Sandberg M, Thune P, Rustad L, Helland S, Middelfart K, Odu S, Falk ES, Solvoll K, Bjorneboe GEAA, Drevon CA. Dietary supplementation with very long

chain n-3 fatty acids in patients with atopic dermatitis - a double-blind, multicenter study. *Br J Dermatol.* 1994;130:757-64.

Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, Sies H, Tronnier H. Carotenoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:795-8.

Stahl W, van den Berg H, Arthur J, Bast A, Dainty J, Faulks RM, Gartner C, Haenen G, Hollmann P, Holst B, Kelly FJ, Polidori MC, Rice-Evans C, Southon S, van Vliet T, Vina-Ribes J, Williamson G, Astley SB. Bioavailability and metabolism. *Mol Aspects Med.* 2002;23:39-100.

Steffan J, Alexander D, Brovedani F, Fisch RD. Comparison of cyclosporine A with methylprednisolone for treatment of canine atopic dermatitis: a parallel, blinded, randomized controlled trial. *Vet Dermatol.* 2003;14:11-22.

Stulnig TM. Immunomodulation by polyunsaturated fatty acids: mechanisms and effects. *Int Arch Allergy Immunol.* 2003;132:310-21.

Sture GH, Halliwell REW, Thoday KL, van den Broeck AH, Henfrey JI, Lloyd DH, Mason IS, Ferguson E. Canine atopic disease - the prevalence of positive intradermal skin tests at 2 sites in the north and south of Great-Britain. *Vet Immunol Immunopathol.* 1995;44:293-308.

Sture GH, Lloyd DH. Canine atopic disease - therapeutic use of an evening primrose oil and fish oil combination. *Vet Rec.* 1995;137:169-70.

Sweeney TM, Downing DT. Role of lipids in epidermal barrier to water diffusion. *J Invest Dermatol.* 1970;55:135-40.

Taugbol O, Baddaky-Taugbol B, Saarem K. The fatty acid profile of subcutaneous fat and blood plasma in pruritic dogs and dogs without skin problems. *Can J Vet Res.* 1998;62:275-8.

Thiesen A, Keelan M, Wild GE, Clandinin MT, Thomson ABR. Stimulating effect of glucocorticosteroids on intestinal fructose transport in rats is increased by feeding a saturated fatty acid diet. *Dig Dis Sci.* 2003;48:2196-206.

Traber MG, Kayden HJ. Tocopherol distribution and intracellular localization in human adipose tissue. *Am J Clin Nutr.* 1987;46:488-95.

Traber MG. Vitamin E, nuclear receptors and xenobiotic metabolism. *Arch Biochem Biophys.* 2004;423:6-11.

Tsourelis-Nikita E, Hercogova J, Lotti T, Menchini G. Evaluation of dietary intake of vitamin E in the treatment of atopic dermatitis: a study of the clinical course and evaluation of the immunoglobulin E serum levels. *Int J Dermatol.* 2002;41:146-50.



- van den Broek, A. H. M and Simpson, J. W. Fat absorption in dogs with atopic dermatitis. In: *Advances in Veterinary Dermatology*, Vol. 1, edited by von Tschärner C, Halliwell REW, London, Bailliere Tindall, 1989;155-60.
- van Gool CJAW, Zeegers MPA, Thijs C. Oral essential fatty acid supplementation in atopic dermatitis - a meta-analysis of placebo-controlled trials. *Br J Dermatol*. 2004;150:728-40.
- van Vleet JF. Experimentally induced vitamin E-selenium deficiency in growing dog. *J Am Vet Med Assoc*. 1975;166:769-74.
- Vaughn DM, Reinhart GA, Swaim SF, Lauten SD, Garner CA, Boudreaux MK, Spano JS, Hoffman CE, Conner B. Evaluation of dietary omega-6 and omega-3 fatty acid ratios on leukotriene B synthesis in dog skin and neutrophils. *Vet Dermatol*. 1994;5:163-73
- Vollset I, Larsen HJ, Mehl R. Immediate type hypersensitivity in dogs induced by storage mites. *Res Vet Sci*. 1986;40:123-27.
- von Mutius E. The environmental predictors of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105:9-19.
- Vriesendorp HM, Smidmercx BMJ, Visser TP, Halliwell REW, Schwartzman RM. Serological DI-A typing of normal and atopic dogs. *Transplant Proc*. 1975;7:375-7.
- Warda M, Zeisig R. Phospholipid- and fatty acid-composition in the erythrocyte membrane of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) and its influence on vesicle properties prepared from these lipids. *Dtsch Tierärztl Wschr*. 2000;107:368-73.
- Watanabe T, Kuroda Y. The effect of a newly developed ointment containing eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in the treatment of atopic dermatitis. *J Med Invest*. 1999;46:173-7.
- Wilkinson GT, Harvey RG. *Farbatlas der Hauterkrankungen bei kleinen Haustieren*. Schlütersche GmbH & Co. KG Verlag und Druckerei, 2. Aufl., 1999.
- Willemse A, Vandenbrom WE. Investigations of the symptomatology and the significance of immediate skin test reactivity in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci*. 1983;34:261-5.
- Willemse A, Noordzij A, Vandenbrom WE, Rutten VPMG. Allergen specific IgGd antibodies in dogs with atopic dermatitis as determined by the Enzyme linked immunosorbent assay (Elisa). *Clin Exp Immunol*. 1985b;59:359-63.
- Willemse A, Noordzij A, Rutten VPMG, Bernadina WE. Induction of non-IgE anaphylactic antibodies in dogs. *Clin Exp Immunol*. 1985a;59:351-8.
- Willemse T. Atopic Skin-Disease - A review and a reconsideration of diagnostic criteria. *J Small Anim Pract*. 1986; 27:771-8.

Willemse T. Atopische Dermatitis beim Hund: neue diagnostische Kriterien. Tierärztl Prax. 1990;18:525-8.

Wittich FW. Spontaneous allergy (atopy) in lower animal - seasonal hay fever (fall type) in a dog. J Allergy. 1941;12:247-51.

Wollenberg A, Bieber T. Atopic dermatitis: from the genes to skin lesions. Allergy. 2000;55:205-13.

Yoon S, Lee J, Lee S. The therapeutic effect of evening primrose oil in atopic dermatitis patients with dry scaly skin lesions is associated with the normalization of serum Gamma-Interferon levels. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol. 2002;15:20-5.

Zamaria N. Alteration of polyunsaturated fatty acid status and metabolism in health and disease. Reprod Nutr Develop. 2004;44:273-82.

Zhang YY, Turunen M, Appelkvist EL. Restricted uptake of dietary coenzyme Q is in contrast to the unrestricted uptake of alpha-tocopherol into rat organs and cells. J Nutr. 1996;126:2089-97.

Ziboh VA, Lord JT. Phospholipase-A activity in the skin - modulators of arachidonic acid release from phosphatidylcholine. Biochem J. 1979;184:283-90.

Ziboh VA, Chapkin RS. Metabolism and function of skin lipids. Prog Lipid Res. 1988;27:81-105.

Ziboh VA, Miller CC. Essential fatty acids and polyunsaturated fatty acids - significance in cutaneous biology. Annu Rev Nutr. 1990;10:433-50.

Ziboh VA. Prostaglandins, leukotrienes and hydroxy fatty acids in epidermis. Semin Dermatol. 1992;11:114-20.

Ziboh VA, Miller CC, Cho YH. Metabolism of polyunsaturated fatty acids by skin epidermal enzymes: generation of antiinflammatory and antiproliferative metabolites. Am J Clin Nutr. 2000;71:361S-6S.

Zur G, Ihrke PJ, White SD, Kass PH. Canine atopic dermatitis: a retrospective study of 266 cases examined at the University of California, Davis, 1992-1998. Part I. Clinical features and allergy testing results. Vet Dermatol. 2002;13:89-102.

## 9 Anhang

### 9.1 Tierdaten, Befundbögen der an atopischer Dermatitis erkrankten Hunde

#### Befundbogen Nr. 1

Patient „Tina“, Collie-Mischling, 4 Jahre, weiblich  
Besitzer: Herr Schuhmann

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	ja	<u>nein</u>
Saisonal	<u>ja</u> *	nein	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	ja	<u>nein</u>
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten, Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

Nein

Fütterung

Pedigree Pal Lamm und Reis, Vitamintabletten

Haltung

Wohnungshund

Seit wann sind die Veränderungen

Seit ca. 1 Jahr

Wo war der Beginn

Seitliche Bauchregion

Behandlung gegen Ektoparasiten

Mit Exspot behandelt

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Exspot, Milbenmittel und Pilzmittel vom Haustierarzt (ohne Erfolg)

\* saisonal verstärkte Symptomatik

**Befundbogen Nr.2**

Patient „Prinz“, DSH, 6 Jahre, männlich  
Besitzer: Familie Müller

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	<u>ja</u>	nein
Saisonal	ja	<u>nein</u>	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	<u>ja</u>	nein
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten, Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

Nein

Fütterung

Eukanuba TF Lamm und Reis

Haltung

Wohnung und Garten

Seit wann sind die Veränderungen

Seit 5 Jahren

Wo war der Beginn

Inguinal

Behandlung gegen Ektoparasiten

Regelmäßig

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Antibiose (Amoxicillin), Cortisontherapie (Besserung unter Cortisonbehandlung)

**Befundbogen Nr. 3**

Patient „Bjonta“, Golden Retriever, 9 Jahre, weiblich (kastriert)  
Besitzer: Frau Nehring

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	<u>ja</u>	nein
Saisonal	<u>ja</u> *	nein	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	<u>ja</u>	nein
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten, Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

Nein

Fütterung

Pedigree Pal Light TF, ggl. Kauknochen, Markies, trockenes Brot, Sauermilch oder Kefir oder Joghurt mit Haferflocken und Weizenkörnern

Haltung

Wohnung, Hof und Garten

Seit wann sind die Veränderungen

Seit ca. 2 Jahren

Wo war der Beginn

Beginnend an der Vorderbrust, ganzjährig, verstärkte Symptomatik im Herbst

Behandlung gegen Ektoparasiten

Regelmäßig

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Unter Antibiotika (Cefaseptin) und Badebehandlung (Hexocil) Besserung des Hautbildes und Allgemeinbefindens, aber Juckreiz weiterhin vorhanden

\* saisonal verstärkte Symptomatik

**Befundbogen Nr. 4**

Patient „Barni“, Jack Russell Terrier, 4 Jahre, männlich  
Besitzer Frau Bongort

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	ja	<u>nein</u>
Saisonal	ja	<u>nein</u>	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	<u>ja</u>	nein
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten,  
Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

Ja, Slowenien

Fütterung

Royal Canine Vet Size, 1 x wöchentlich Leckerli, tägliche Verabreichung eines Knoblauch-Hefe-Granulates

Haltung

Wohnung und Pferdehof

Seit wann sind die Veränderungen

Seit ca. einem halben Jahr

Wo war der Beginn

Initial an den Pfoten, dann Ausbreitung über proximale Extremitäten

Behandlung gegen Ektoparasiten

Nicht bekannt

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Cortisontherapie (erfolgreich)

**Befundbogen Nr. 5**

Patient: „Rocky“, Spitzmischling, 5 Jahre, männlich  
Besitzer: Familie Rockmann

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	<u>ja</u>	nein
Saisonal	ja	<u>nein</u>	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	<u>ja</u>	nein
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten, Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

nein

Fütterung

Artos TF, selten verschiedene Leckerli

Haltung

Kombinierte Hof- und Wohnungshaltung

Seit wann sind die Veränderungen

Seit dem 1. Lebensjahr

Wo war der Beginn

Flanken, Pfoten und Ohren, später auch periorbital

Behandlung gegen Ektoparasiten

ja

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Antibiotika und Cortison, erfolgreiche Behandlung

Diagnostische Maßnahmen:

Biopsie, Allg. Blutchemie

**Befundbogen Nr. 6**

Patient „Bobby“, Bobtail, 6 Jahre, männlich  
Besitzer:

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	<u>ja</u>	nein
Saisonal	<u>ja</u> *	nein	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	ja	<u>nein</u>
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten,  
Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

Nein

Fütterung

Matzinger TF, ggl. Fleischtopf von Loyal, 1 x monatlich ein Ei, ggl. Sporti-Kauriegel

Haltung

Wohnungshaltung

Seit wann sind die Veränderungen

Nicht bekannt

Wo war der Beginn

Im Inguinal- und Ellenbogenbereich, später auch im Schwanzbereich

Behandlung gegen Ektoparasiten

Regelmäßige Behandlung mit Frontline

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Cortisonbehandlung (erfolgreich)

\* saisonal verstärkte Symptomatik



**Befundbogen Nr. 7**

Patient: „Vinzens“, Shi-Tzu, 2 Jahre, männlich  
Besitzer: Familie Fiedler

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	<u>ja</u>	nein
Saisonal	ja	<u>nein</u>	Konjunktivitis	ja	<u>nein</u>
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	<u>ja</u>	nein
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten, Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

nein

Fütterung

Pedigree Pal Dosenfutter, ggl. Frolic, „Puffreis“-Leckerli

Haltung

Wohnungshaltung

Seit wann sind die Veränderungen

Seit dem ersten Lebensjahr

Wo war der Beginn

Inguinal, später auch auf seitlichen Thorax übergehend

Behandlung gegen Ektoparasiten

Regelmäßige Behandlung mit Frontline-Ampullen

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Cortisontherapie (erfolgreich), nach der Blutentnahme wurde mit einer Hyposensibilisierung begonnen und damit eine deutliche Besserung erreicht

**Befundbogen Nr. 8**

Patient „Sarah“ Dt. Boxer, ca. 4 Jahre, weiblich  
Besitzer: Familie Lang

Symptome (Zutreffendes ist unterstrichen)

Ganzjährig	<u>ja</u>	nein	Otitis	<u>ja</u>	nein
Saisonal	ja	<u>nein</u>	Konjunktivitis	<u>ja</u>	nein
Juckreiz	<u>ja</u>	nein	Pododermatitis	<u>ja</u>	nein
			Bilaterale Symmetrie	<u>ja</u>	nein

Erythem, Alopezie, Flecken, Papeln, Pusteln, Quaddeln, Schuppen, Krusten, Hyperkeratose, Hyperpigmentierung, Sekundäre Pyodermie

Auslandaufenthalt

nein

Fütterung

Pedigree Pal multicomplete, ggl. Rohes Ei

Haltung

Kombinierte Hof-Wohnungshaltung

Seit wann sind die Veränderungen

Nicht bekannt, der Hund wurde im Alter von 3 Jahren durch die Boxerhilfe vermittelt

Wo war der Beginn

Nicht bekannt, zur Zeit Juckreiz, Rötung und sekundäre Läsionen inguinal, an den Pfoten, ggl. auch periorbital, Otitis, Konjunktivitis

Behandlung gegen Ektoparasiten

Regelmäßig mit Frontline- oder Expot-Ampullen

Sind Geschwister- oder Elterntiere mit Hauterkrankungen bekannt

Nicht bekannt

Welche Therapien wurden durchgeführt

Cortisontherapie (erfolgreich), eine Hyposensibilisierung brachte nicht den gewünschten Erfolg

## 9.2 Materialien

### 9.2.1 Chemikalien

Natriumchlorid	SIGMA-ALDRICH, Taufkirchen
Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat	Germes, Labor- und Feinchemikalien, Deutschland
di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
methanolische Salzsäure	SIGMA-ALDRICH, Taufkirchen
Natriumhydroxid	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Ascorbinsäure	SIGMA-ALDRICH, Taufkirchen
Chloroform (99%ig)	Fisher Scientific GmbH, Geel – Belgien
Methanol (99,8%ig)	Fisher Scientific GmbH, Geel – Belgien
n-Hexan (98%ig)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Essigsäure (99,8%ig)	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Phospholipide-Kit (Standardsubstanzen)	SIGMA-ALDRICH, Taufkirchen
Molybdäthosphorsäure Hydrat	Carl Roth GmbH, Karlsruhe
Primulinchlorid	Carl Roth GmbH, Karlsruhe

### 9.2.2 Verbrauchsmaterial

Heparinröhrchen 9ml	Heiland GmbH, Hamburg
Yellowcups (50 ml)	greiner bio-one GmbH, Solingen
Oak-Ridge-Zentrifugenröhrchen (30ml)	Th. Geyer, Berlin
Glasröhrchen (Wheaton-Kultur-Röhrchen)	Th. Geyer, Berlin
Schraubkappen mit teflonbeschichteten Dichtungen	Th. Geyer, Berlin
Eppendorfgeläße (1,5 ml)	Eppendorf, Hamburg
Mikroliterspritzen aus Glas	Th. Geyer, Berlin
Präparative Platten (0.5 mm Kieselgel 60 - F <sub>254</sub> -, 20 x 20 cm)	MERCK, Darmstadt
HPTLC-Platten (Kieselgel 60 - F <sub>254</sub> -, 10 x 10 cm, vorgeritzt)	MERCK, Darmstadt

### 9.2.3 Apparative Ausstattung

Labofuge 400k	Heraeus, Kendro Laboratory Products, Langenselbold, Deutschland
Biofuge 28KS	Heraeus, Kendro Laboratory Products, Langenselbold, Deutschland
Sonoplus Homogenisator 2070	BANDELIN electronic GmbH & CoKG, Berlin
Wärmeschrank T 06	Heraeus, Kendro Laboratory Products, Langenselbold, Deutschland

Waage BP 211 D	sartorius, Göttingen
Horizontal-Entwicklungs-Kammer für Platten 10 x 10 cm	Camag, Schweiz
Horizontal-Entwicklungs-Kammer für Platten 5 x 5 cm	DESAGA, Deutschland
Gene Genius (Software: Gene Tools)	SYNGENE, USA
HPLC - Anlage	Knauer, Berlin
Reversed-Phase-Säule	Varian-Chrompack, Darmstadt
Auswertungsprogramm: Chromgate	Knauer, Berlin
Gaschromatograph (GC):	
Gaschromatograph CP3800	VARIAN, Darmstadt
Autosampler 8200	VARIAN, Darmstadt
Säule: Omegawax TM 320 (SUPELCO)	SIGMA-ALDRICH, Taufkirchen
Auswertprogramm: Star 5.0	VARIAN, Darmstadt

### 9.3 Herstellung der Lösungen

- 0,89%ige Kochsalzlösung  
    2,23 g NaCl in 250 ml H<sub>2</sub>O  
    auf pH 7,4 eingestellt
- NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung  
    1,38 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in 1 l H<sub>2</sub>O lösen
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung  
    1,78 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> in 1 l H<sub>2</sub>O lösen
- 10 mM Phosphatpuffer  
    20 ml NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-Lösung  
    + 230 ml Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-Lösung
- 5 mM Phosphatpuffer  
    50 ml 10 mM Phosphatpuffer  
    + 50 ml H<sub>2</sub>O  
    + 88,1 mg Ascorbinsäure (= 5 mM)  
    auf pH 8,0 einstellen
- 2,5 mM Phosphatpuffer  
    25 ml 10 mM Phosphatpuffer  
    + 75 ml H<sub>2</sub>O  
    + 88,1 mg Ascorbinsäure  
    auf pH 8,0 einstellen
- 1,25 mM Phosphatpuffer  
    31,25 ml 10 mM Phosphatpuffer

+ 218,75 ml H<sub>2</sub>O  
+ 220 mg Ascorbinsäure (= 5 mM)  
auf pH 8,0 einstellen

- 2 mM Primulinlösung  
5 mg Primulin  
in 100 ml Aceton-Wassergemisch (80:20) lösen

- 10%ige ethanolische Molybdatophosphorsäure  
10 g Molybdatophosphorsäure  
in 100 ml Ethanol lösen und die Lösung steril filtrieren

## 9.4 Ergebnistabellen

Tab. 9.1: Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

	Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen in µg FAME																Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen in % FAME															
Paar	1		2		3		4		5		6		7		8		1		2		3		4		5		6		7		8	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
C16:0	45,1	74,2	60,4	65,6	58,0	57,0	53,3	56,8	70,5	66,1	48,1	65,0	78,8	49,4	56,9	75,8	14,6	14,3	14,9	13,8	14,1	12,9	15,9	14,5	15,4	16,1	13,8	15,9	16,4	15,1	16,6	14,4
C16:1n7	0,8	1,2	1,3	1,3	1,7	1,4	1,4	1,0	1,4	1,1	0,9	2,9	0,9	0,7	1,6	1,5	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3	0,7	0,2	0,2	0,5	0,3
C18:0	80,3	134,7	109,1	112,1	104,2	115,8	85,6	100,1	103,3	98,5	85,1	101,0	107,4	73,7	82,3	142,6	26,1	26,1	27,0	23,6	25,3	26,3	25,6	25,6	22,6	23,9	24,5	24,7	22,4	22,6	24,0	27,1
C18:1n9	30,5	46,2	40,4	47,6	40,3	37,9	33,3	36,9	52,5	36,6	32,4	37,9	47,4	31,3	33,5	43,1	9,9	8,9	10,0	10,0	9,8	8,6	10,0	9,4	11,5	8,9	9,3	9,2	9,9	9,6	9,8	8,2
C18:1n7	9,1	13,9	11,8	13,1	13,3	10,3	8,9	11,5	12,3	8,6	1,8	9,7	11,0	6,2	9,7	11,2	3,0	2,7	2,9	2,8	3,2	2,3	2,7	2,9	2,7	2,1	0,5	2,4	2,3	1,9	2,8	2,1
C18:2n6	35,4	52,9	34,4	41,5	58,3	47,6	33,0	38,9	51,7	44,3	41,8	50,5	60,9	29,7	36,2	48,1	11,5	10,2	8,5	8,7	14,1	10,8	9,9	9,9	11,3	10,8	12,0	12,3	12,7	9,1	10,6	9,1
C18:3n6	0,3	0,7	0,2	0,4	0,5	0,6	0,4	0,6	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,3	0,4	1,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
C18:3n3	0,2	0,6	0,1	0,4	0,7	0,5	0,4	0,7	0,7	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,3	0,5	0,1	0,1	0,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
C20:0	0,4	0,8	0,4	0,7	0,4	0,6	1,4	0,8	0,4	0,7	0,4	0,6	0,8	0,6	0,6	1,0	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C20:1n9	2,1	2,5	2,5	3,0	2,0	1,7	1,7	2,6	3,1	1,7	1,8	1,9	3,0	1,8	1,5	2,8	0,7	0,5	0,6	0,6	0,5	0,4	0,5	0,7	0,7	0,4	0,5	0,5	0,6	0,6	0,4	0,5
C20:2n6	1,3	1,8	0,5	0,9	1,8	2,2	1,5	1,7	1,4	0,5	1,0	1,3	1,3	0,6	1,0	2,2	0,4	0,3	0,1	0,2	0,4	0,5	0,5	0,4	0,3	0,1	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,4
C20:3n6	6,9	8,9	8,5	9,7	6,7	5,7	7,0	5,9	11,0	6,8	7,8	6,6	8,9	3,8	4,5	7,6	2,2	1,7	2,1	2,0	1,6	1,3	2,1	1,5	2,4	1,7	2,2	1,6	1,9	1,2	1,3	1,4
C20:4n6	72,1	132,3	108,3	136,4	99,4	128,3	73,3	105,6	115,7	120,0	89,7	103,0	114,9	99,3	93,6	154,2	23,4	25,6	26,8	28,7	24,1	29,1	21,9	27,0	25,3	29,2	25,8	25,1	23,9	30,4	27,4	29,3
C20:5n3	1,6	1,2	2,7	2,8	1,7	0,5	1,9	3,1	1,7	1,6	1,1	0,9	1,9	1,3	0,9	0,9	0,5	0,2	0,7	0,6	0,4	0,1	0,6	0,8	0,4	0,4	0,3	0,2	0,4	0,4	0,3	0,2
C22:0	1,2	3,1	1,2	0,6	1,5	2,4	3,2	2,0	2,1	2,0	2,4	2,3	2,9	2,7	1,9	3,7	0,4	0,6	0,3	0,1	0,4	0,5	0,9	0,5	0,5	0,5	0,7	0,6	0,6	0,8	0,5	0,7
C22:2n6	0,2	0,8	0,0	0,4	0,3	1,1	0,5	0,2	0,3	0,0	0,3	0,4	0,7	0,5	0,3	0,5	0,1	0,2	0,0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
C22:4n6	5,6	13,0	4,8	5,9	5,2	11,4	4,8	5,0	9,4	5,8	5,3	8,6	11,0	6,5	5,2	13,8	1,8	2,5	1,2	1,2	1,3	2,6	1,4	1,3	2,1	1,4	1,5	2,1	2,3	2,0	1,5	2,6
C22:5n3	2,2	5,3	1,5	2,3	3,4	5,4	2,4	4,6	3,1	2,5	2,0	2,3	2,7	2,7	1,8	5,5	0,7	1,0	0,4	0,5	0,8	1,2	0,7	1,2	0,7	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	0,5	1,0
C24:0	2,2	4,1	2,4	4,6	2,8	1,9	3,9	2,1	3,0	2,8	3,9	3,0	5,2	3,1	3,9	4,9	0,7	0,8	0,6	1,0	0,7	0,4	1,2	0,5	0,7	0,7	1,1	0,7	1,1	1,0	1,1	0,9
C22:6n3	2,1	2,4	5,4	6,6	1,3	1,2	2,1	2,6	1,2	1,9	1,2	0,6	2,1	1,3	1,6	2,2	0,7	0,5	1,3	1,4	0,3	0,3	0,6	0,7	0,3	0,5	0,3	0,1	0,4	0,4	0,5	0,4
C24:1n9	8,6	16,5	8,7	19,0	9,1	7,4	14,6	9,0	12,1	8,7	13,3	10,1	17,8	10,6	9,9	3,8	2,8	3,2	2,2	4,0	2,2	1,7	4,4	2,3	2,6	2,1	3,8	2,5	3,7	3,2	2,9	0,7
Summe	308,1	517,0	404,8	474,8	412,6	440,7	334,6	391,7	457,4	411,1	347,2	409,7	480,4	326,8	342,2	526,8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	101,6	100,0

Tab. 9.2: Fettsäuregehalte der Sphingomyelin(SM)-Fraktion der Erythrozytenmembranen; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

	Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der SM-Fraktion in µg FAME																Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der SM-Fraktion in % FAME															
Paar	1		2		3		4		5		6		7		8		1		2		3		4		5		6		7		8	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
C16:0	0,00	1,67	1,87	2,18	0,51	1,50	4,88	0,70	0,85	1,62	1,46	1,38	4,00	3,21	0,63	4,18	0,00	7,73	15,67	8,84	4,08	10,58	16,05	5,97	5,39	12,37	7,24	9,48	14,69	16,77	4,30	28,68
C16:1n7	0,00	0,01	0,17	0,09	0,01	0,07	0,04	0,00		0,08	0,06	0,02		0,01	0,03	0,00	0,00	0,05	1,43	0,36	0,10	0,50	0,12	0,00	0,00	0,62	0,31	0,11	0,00	0,07	0,23	0,00
C18:0	0,00	1,41	0,70	1,35	0,95	1,26	3,58	0,18	0,00	0,12	0,00	0,02	0,71	0,31	0,07	0,98	0,00	6,53	5,86	5,46	7,67	8,86	11,78	1,51	0,00	0,89	0,00	0,13	2,60	1,62	0,46	6,74
C18:1n9	0,00	0,00	0,00	0,43	0,19	0,70	1,32	0,17	0,05	0,21	1,36	0,15	0,35	0,13	0,29	0,03	0,00	0,00	0,00	1,73	1,54	4,91	4,35	1,46	0,34	1,58	6,75	1,04	1,30	0,66	1,97	0,22
C18:1n7							0,12			0,04		0,04	0,07	0,05	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,29	0,00	0,30	0,26	0,23	0,73	0,00
C18:2n6	0,02	0,02	0,00	0,04	0,03	0,17	0,23	0,08	0,02	0,07	0,13	0,03	0,13	0,17	0,24	0,04	0,17	0,07	0,00	0,15	0,24	1,23	0,74	0,72	0,14	0,50	0,63	0,18	0,47	0,87	1,62	0,30
C18:3n6	0,00	0,03	0,00	0,05	0,02	0,05	0,00	0,01	0,02	0,12	0,08			0,03	0,08	0,12	0,03	0,12	0,02	0,21	0,19	0,34	0,01	0,09	0,11	0,94	0,38	0,00	0,00	0,13	0,53	0,81
C18:3n3						0,11	0,06							0,07		0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,75	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,00	0,38
C20:0	0,09	0,22	0,04	0,19	0,10	0,24	0,41	0,18	0,15	0,23	0,13	0,19	0,29	0,21	0,16	0,46	0,88	1,00	0,37	0,77	0,84	1,69	1,35	1,53	0,98	1,72	0,65	1,32	1,07	1,11	1,10	3,15
C20:1n9														0,10			0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,54	0,00	0,00
C20:2n6				0,00		0,00								0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C20:3n6	0,37	0,30	0,58	0,12	0,50	0,05	1,83	0,56	0,99	0,11	0,61	0,53	0,14		0,51		3,52	1,38	4,86	0,49	4,03	0,32	6,01	4,75	6,27	0,80	3,05	3,66	0,52	0,00	3,48	0,00
C20:4n6	0,11	0,23		1,67	0,04	0,17					0,10			0,63	0,09		1,01	1,05	0,00	6,75	0,34	1,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,00	0,00	3,28	0,64	0,00
C20:5n3															0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:0	1,13	2,15	0,77		0,85	1,81	2,41	1,32	1,56	1,39	1,78	1,42	2,40	2,06	1,17	2,98	10,65	9,95	6,44	0,00	6,79	12,74	7,92	11,28	9,92	10,60	8,85	9,76	8,83	10,78	8,01	20,43
C22:2n6	0,04	0,06	0,01	0,05	0,05	0,16	0,24	0,03	0,09	0,00	0,14		0,13	0,41	0,16	0,19	0,33	0,29	0,08	0,22	0,38	1,14	0,80	0,21	0,55	0,00	0,68	0,00	0,46	2,13	1,08	1,27
C22:4n6												0,34					0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,30	0,00	0,00	0,00	0,00
C22:5n3															0,12		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,82	
C24:0	1,77	3,14	1,87	3,65	2,17	1,63	3,02	1,65	2,41	2,22	3,33	2,23	4,02	2,75	2,90	4,19	16,73	14,54	15,62	14,80	17,42	11,45	9,95	14,13	15,32	16,87	16,55	15,30	14,78	14,38	19,88	28,73
C22:6n3															0,05		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	
C24:1n9	7,05	12,39	5,93	14,86	7,01	6,29	12,27	6,82	9,60	6,93	10,94	8,22	14,98	9,02	8,18	1,18	66,68	57,29	49,66	60,23	56,38	44,27	40,35	58,34	60,99	52,81	54,40	56,42	55,02	47,07	55,98	8,09
Summe	10,57	21,63	11,94	24,68	12,44	14,20	30,41	11,68	15,73	13,13	20,11	14,57	27,22	19,15	14,60	14,58	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 9.3: Fettsäuregehalte der Phosphatidylcholin(PC)-Fraktion der Erythrozytenmembranen; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

Paar	Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der PC-Fraktion in µg FAME								Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der PC-Fraktion in % FAME							
	1		2		3		4		5		6		7		8	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
<b>C16:0</b>	29,51	48,34	40,08	41,89	41,05	40,20	35,97	42,70	52,66	49,68	31,49	44,75	53,30	27,46	41,04	44,34
<b>C16:1n7</b>	0,30	0,53	0,53	0,47	1,04	0,50	0,78	0,52	0,68	0,70	0,30	0,72	0,49	0,28	0,86	0,52
<b>C18:0</b>	33,30	52,18	26,84	36,08	51,19	52,95	32,01	34,64	43,07	40,90	31,87	37,01	47,72	26,70	34,58	61,47
<b>C18:1n9</b>	13,91	22,76	19,58	22,37	21,23	18,70	15,36	20,48	28,39	21,08	13,07	19,85	23,60	12,17	16,95	18,68
<b>C18:1n7</b>	5,20	8,20	6,71	7,87	9,03	6,34	5,16	7,66	7,62	6,02	4,41	6,08	7,00	3,08	6,58	6,44
<b>C18:2n6</b>	29,77	44,47	27,57	34,09	50,68	41,13	27,71	33,57	43,36	39,80	34,64	44,10	53,36	23,00	31,69	38,45
<b>C18:3n6</b>	0,12	0,21	0,03	0,10	0,24	0,20	0,18	0,21	0,15	0,15	0,15	0,17	0,21	0,10	0,18	0,42
<b>C18:3n3</b>	0,19	0,34	0,12	0,15	0,58	0,27	0,24	0,35	0,53	0,36	0,25	0,34	0,30	0,15	0,18	0,25
<b>C20:0</b>	0,00	0,04	0,01	0,01	0,05	0,07	0,50	0,09	0,01	0,00	0,02	0,00	0,10	0,00	0,07	0,05
<b>C20:1n9</b>	0,82	0,98	0,93	0,84	0,82	0,83	0,73	1,03	1,05	0,98	0,57	0,80	1,20	0,45	0,64	1,01
<b>C20:2n6</b>	0,63	0,92	0,41	0,56	1,03	1,01	0,83	1,12	0,71	0,55	0,58	0,71	0,77	0,34	0,55	1,09
<b>C20:3n6</b>	2,38	2,73	2,30	3,96	3,76	3,18	1,59	2,33	3,91	2,60	2,83	2,41	3,38	1,36	1,64	3,16
<b>C20:4n6</b>	15,69	30,75	9,66	19,54	25,44	40,29	14,94	20,66	19,95	29,93	16,29	22,71	30,18	21,16	24,20	47,69
<b>C20:5n3</b>	0,56	0,38	0,43	0,74	1,09	0,22	0,84	1,44	0,50	0,77	0,31	0,32	0,46	0,35	0,24	0,34
<b>C22:0</b>		0,04		0,06		0,06		0,36					0,07	0,09		
<b>C22:2n6</b>	0,05	0,14	0,03	0,25	0,25	0,26	0,25	0,08	0,13		0,08	0,32	0,25	0,08	0,06	0,15
<b>C22:4n6</b>	0,76	2,50	0,27	0,54	1,38	3,00	0,45	0,75	0,94	1,37	0,42	1,17	1,21	0,78	0,88	3,99
<b>C22:5n3</b>	1,73	3,36	0,54	1,21	2,47	3,51	1,47	3,23	2,17	2,51	1,27	1,31	1,72	1,28	1,56	4,73
<b>C24:0</b>					0,00		0,32						0,05	0,00		
<b>C22:6n3</b>	1,36	1,11	0,92	2,37	0,90	0,73	1,11	1,28	0,51	1,91	0,43		0,90	0,54	0,92	1,60
<b>C24:1n9</b>		0,05			0,11		0,16	0,17					0,15	0,18		
<b>Summe</b>	136,3	220,0	137,0	173,0	212,3	213,4	141,0	172,3	206,3	199,3	139,0	182,8	226,4	119,6	162,8	234,4
	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0



Tab. 9.4: Fettsäuregehalte der Phosphatidylserin(PS)-Fraktion der Erythrozytenmembranen; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

	Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der PS-Fraktion in µg FAME																Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der PS-Fraktion in % FAME																
Paar	1		2		3		4		5		6		7		8		1		2		3		4		5		6		7		8		
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	
C16:0	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
C16:1n7	0,00	0,00	0,02	0,05		0,04	0,07	0,00		0,00	0,04	0,01	0,04	0,01	0,03	0,00	0,00	0,00	0,02	0,06	0,00	0,06	0,14	0,00	0,00	0,00	0,08	0,02	0,08	0,03	0,07	0,00	
C18:0	19,05	37,65	45,85	37,44	21,07	30,00	25,48	36,59	27,14	28,14	23,44	35,41	26,87	12,13	23,33	40,31	49,29	45,48	46,69	44,72	46,69	45,62	49,18	47,44	40,21	46,42	48,90	47,02	46,98	44,93	48,76	48,98	
C18:1n9	0,65	1,24	1,43	1,18	0,28	0,81	1,38	0,97	1,26	0,81	0,65	1,00	0,86	0,96	0,47	0,90	1,68	1,50	1,46	1,41	0,61	1,23	2,67	1,26	1,86	1,33	1,35	1,33	1,51	3,54	0,99	1,09	
C18:1n7	0,45	0,74	1,28	0,91	0,31	0,55	0,43	0,56	0,60	0,26	0,37	0,59	0,39	0,31	0,30	0,57	1,17	0,89	1,30	1,08	0,69	0,83	0,84	0,72	0,89	0,43	0,77	0,78	0,68	1,15	0,62	0,69	
C18:2n6	0,78	1,69	1,89	1,31	0,71	1,07	1,06	1,06	1,31	0,58	0,95	1,29	1,03	0,71	0,58	1,48	2,01	2,04	1,92	1,57	1,58	1,62	2,04	1,37	1,94	0,96	1,98	1,71	1,79	2,63	1,21	1,80	
C18:3n6	0,05	0,18	0,11	0,10	0,08	0,12	0,08	0,22	0,10	0,10	0,08	0,16	0,08	0,04	0,06	0,20	0,13	0,22	0,11	0,12	0,19	0,18	0,16	0,29	0,15	0,17	0,16	0,22	0,14	0,13	0,12	0,24	
C18:3n3				0,07		0,04	0,00					0,09		0,06			0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,23	0,00	0,00
C20:0	0,00	0,04	0,07	0,10	0,07	0,03	0,11	0,13	0,07	0,18	0,05	0,10	0,07	0,02	0,03	0,11	0,01	0,04	0,07	0,12	0,16	0,04	0,21	0,17	0,10	0,29	0,10	0,14	0,12	0,07	0,05	0,13	
C20:1n9	0,11	0,14	0,30	0,39	0,17	0,14	0,00	0,32	0,28	0,19	0,23	0,11	0,23	0,14	0,21	0,30	0,27	0,17	0,31	0,47	0,38	0,21	0,00	0,41	0,41	0,31	0,49	0,14	0,40	0,50	0,43	0,36	
C20:2n6	0,05	0,11	0,05	0,04	0,01	0,06	0,07	0,07	0,08		0,02	0,13			0,09	0,11	0,12	0,14	0,05	0,05	0,01	0,09	0,13	0,09	0,12	0,00	0,05	0,17	0,00	0,00	0,18	0,13	
C20:3n6	1,42	1,93	2,80	2,02	0,37	0,80	1,52	1,34	2,30	1,23	1,21	1,61	1,74	0,64	0,74	1,40	3,67	2,33	2,85	2,41	0,81	1,22	2,94	1,73	3,40	2,03	2,51	2,13	3,05	2,36	1,54	1,70	
C20:4n6	15,20	34,87	39,11	37,68	21,38	30,07	20,81	33,83	32,47	28,27	20,05	32,73	24,17	11,13	21,24	35,48	39,33	42,13	39,83	45,00	47,37	45,73	40,17	43,87	48,11	46,63	41,83	43,46	42,26	41,22	44,40	43,11	
C20:5n3	0,10	0,21	0,64	0,36	0,09			0,40	0,21			0,17	0,18	0,08	0,09	0,00	0,25	0,26	0,66	0,43	0,19	0,00	0,00	0,52	0,32	0,00	0,00	0,23	0,31	0,28	0,20	0,00	
C22:0	0,09	0,04	0,07		0,09			0,13				0,26	0,07	0,12	0,06	0,07	0,24	0,04	0,07	0,00	0,19	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,34	0,11	0,44	0,12	0,08	
C22:2n6	0,03	0,03	0,00	0,07	0,03	0,00	0,02	0,00	0,07			0,07					0,08	0,04	0,00	0,09	0,06	0,00	0,03	0,00	0,10	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	
C22:4n6	0,68	1,94	1,26	1,02	0,25	1,44	0,72	0,99	1,23	0,87	0,46	1,68	1,47	0,55	0,58	1,38	1,75	2,35	1,29	1,21	0,55	2,19	1,38	1,28	1,82	1,44	0,97	2,23	2,57	2,02	1,21	1,68	
C22:5n3		1,16	0,73	0,29	0,24	0,44		0,31							0,00	0,00	0,00	1,41	0,74	0,35	0,52	0,67	0,00	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
C24:0			0,06			0,06		0,12							0,05		0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	
C22:6n3		0,59	2,06	0,70		0,17		0,21									0,00	0,72	2,10	0,83	0,00	0,26	0,00	0,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
C24:1n9		0,21						0,26		0,29			0,12				0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38	0,00	0,61	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	
Summe	38,7	82,8	98,2	83,7	45,1	65,8	51,8	77,1	67,5	60,6	47,9	75,3	57,2	27,0	47,8	82,3	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	

Tab. 9.5: Fettsäuregehalte der Phosphatidylethanolamin(PE)-Fraktion der Erythrozytenmembranen; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

Paar	Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der PE-Fraktion in µg FAME								Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der PE-Fraktion in % FAME							
	1		2		3		4		5		6		7		8	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
<b>C16:0</b>	12,02	17,82	13,13	15,21	12,41	11,38	8,69	10,44	15,23	12,55	12,63	14,23	16,42	13,04	13,83	19,49
<b>C16:1n7</b>	0,42	0,54	0,53	0,66	0,64	0,57	0,44	0,36	0,70	0,27	0,44	0,53	0,33	0,38	0,59	0,76
<b>C18:0</b>	23,48	37,89	29,25	32,17	27,21	27,42	19,88	24,88	30,54	25,83	25,23	23,09	27,97	29,48	22,09	33,56
<b>C18:1n9</b>	15,09	20,00	18,61	22,52	17,30	15,89	13,27	14,12	21,97	13,13	15,91	14,74	20,42	15,94	14,61	20,94
<b>C18:1n7</b>	3,32	4,62	3,61	4,13	3,72	3,13	2,88	3,01	3,86	2,07	2,76	2,68	3,15	2,37	2,53	3,68
<b>C18:2n6</b>	4,49	5,94	4,79	5,82	6,36	4,71	3,52	3,78	6,73	3,47	5,38	4,58	5,84	4,63	3,44	7,42
<b>C18:3n6</b>	0,07	0,15	0,06	0,10	0,11	0,12	0,09	0,11	0,13		0,08	0,19	0,11	0,10	0,09	0,18
<b>C18:3n3</b>	0,01	0,16		0,09	0,12	0,05	0,07	0,31	0,17		0,11	0,17	0,11	0,09	0,10	0,10
<b>C20:0</b>	0,00	0,05	0,02	0,04	0,00	0,03	0,04	0,14	0,06		0,03	0,07	0,13	0,14	0,04	0,00
<b>C20:1n9</b>	1,17	1,27	1,24	1,73	1,04	0,66	1,00	1,15	1,65	0,55	1,03	0,79	1,47	0,87	0,65	1,37
<b>C20:2n6</b>	0,55	0,64	0,06	0,30	0,72	0,55	0,56	0,50	0,64		0,40	0,38	0,48	0,29	0,33	0,92
<b>C20:3n6</b>	2,58	3,66	2,67	3,35	2,00	1,53	1,73	1,60	3,58	2,57	2,80	1,75	3,50	1,60	1,37	2,84
<b>C20:4n6</b>	39,74	63,98	57,67	75,31	50,60	54,72	35,16	48,36	61,69	57,95	49,07	43,01	57,56	62,26	45,47	65,70
<b>C20:5n3</b>	0,42	0,53	1,53	1,70	0,56	0,30	1,01	1,27	1,03	0,87	0,80	0,44	0,66	0,72	0,44	0,53
<b>C22:0</b>		0,15	0,06		0,04	0,08	0,10	0,14	0,16			0,09	0,21	0,05	0,22	0,07
<b>C22:2n6</b>	0,05	0,54	0,00	0,02	0,01	0,04	0,01	0,10			0,04		0,31	0,02	0,10	
<b>C22:4n6</b>	4,13	8,35	3,23	4,30	3,61	6,64	3,50	3,23	7,13	3,25	4,01	4,93	7,69	4,90	3,56	7,83
<b>C22:5n3</b>	0,51	0,77	0,15	0,80	0,43	0,59	0,94	1,07	0,96		0,76	1,00	1,02	0,98	0,28	0,65
<b>C24:0</b>	0,05	0,11	0,07	0,20	0,04		0,09	0,05	0,03		0,21	0,16		0,12	0,04	0,04
<b>C22:6n3</b>	0,77	0,69	2,30	3,50	0,38	0,31	0,95	1,12	0,72		0,73	0,60	1,17	0,73	0,70	0,54
<b>C24:1n9</b>	0,49	1,82	0,53	0,83	0,32	0,26	0,45	0,73	0,83		0,41	0,72		0,29	0,35	0,44
<b>Summe</b>	109,3	169,7	139,5	172,8	127,6	129,0	94,4	116,5	157,8	122,5	122,2	113,8	149,4	138,6	110,9	167,0
	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 9.6: Fettsäuregehalte des Cholesterols (CH) der Erythrozytenmembranen; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

	Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der CH-Fraktion in µg FAME																Fettsäuregehalte der Erythrozytenmembranen der CH-Fraktion in % FAME															
Paar	1		2		3		4		5		6		7		8		1		2		3		4		5		6		7		8	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
C16:0	3,56	6,32	4,82	6,33	4,02	3,95	3,72	2,94	1,78	2,27	2,48	4,66	5,09	5,69	1,39	7,78	26,92	27,64	26,65	30,72	26,62	21,52	21,85	20,79	17,70	14,58	13,80	20,08	25,15	25,27	12,07	27,23
C16:1n7	0,04	0,12	0,07	0,04		0,17	0,11	0,09	0,03	0,00	0,04	1,66		0,07	0,12	0,19	0,26	0,54	0,40	0,21	0,00	0,92	0,65	0,66	0,26	0,01	0,21	7,16	0,00	0,32	1,04	0,68
C18:0	4,49	5,61	6,49	5,10	3,73	4,15	4,64	3,80	2,57	3,46	4,55	5,43	4,10	5,10	2,20	6,32	33,98	24,54	35,85	24,78	24,70	22,61	27,26	26,89	25,51	22,26	25,31	23,42	20,25	22,64	19,16	22,09
C18:1n9	0,85	2,22	0,81	1,13	1,33	1,79	1,98	1,18	0,82	1,41	1,42	2,11	2,12	2,08	1,19	2,58	6,40	9,71	4,47	5,50	8,80	9,75	11,62	8,36	8,10	9,07	7,88	9,10	10,50	9,23	10,32	9,04
C18:1n7	0,17	0,36	0,22	0,20	0,26	0,30	0,29	0,28	0,18	0,21	0,30	0,34	0,36	0,41	0,21	0,46	1,25	1,57	1,22	0,98	1,72	1,62	1,71	1,94	1,78	1,36	1,66	1,47	1,79	1,82	1,83	1,62
C18:2n6	0,32	0,75	0,17	0,26	0,52	0,48	0,49	0,37	0,26	0,35	0,70	0,53	0,49	1,20	0,28	0,70	2,38	3,30	0,91	1,25	3,44	2,62	2,87	2,60	2,61	2,27	3,92	2,26	2,41	5,31	2,41	2,46
C18:3n6	0,05	0,09	0,03	0,05	0,02	0,07	0,06	0,06	0,05	0,06	0,04		0,06	0,04	0,04	0,07	0,40	0,38	0,19	0,24	0,15	0,40	0,33	0,42	0,47	0,36	0,22	0,00	0,31	0,18	0,36	0,26
C18:3n3		0,08		0,06		0,04	0,04				0,09		0,07	0,14	0,06	0,07	0,00	0,35	0,00	0,27	0,00	0,22	0,24	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,34	0,60	0,52	0,25
C20:0	0,28	0,43	0,22	0,35	0,17	0,23	0,32	0,29	0,13	0,26	0,19	0,31	0,31	0,27	0,18	0,38	2,09	1,89	1,20	1,70	1,15	1,24	1,88	2,08	1,27	1,65	1,06	1,33	1,54	1,18	1,57	1,32
C20:1n9		0,11				0,10		0,07	0,12			0,19	0,14	0,29		0,18	0,00	0,47	0,00	0,00	0,00	0,53	0,00	0,49	1,16	0,00	0,00	0,80	0,67	1,27	0,00	0,62
C20:2n6	0,04	0,11	0,00		0,00	0,53	0,07	0,02				0,12	0,07			0,07	0,28	0,48	0,00	0,00	0,00	2,87	0,39	0,11	0,00	0,00	0,00	0,50	0,36	0,00	0,00	0,25
C20:3n6	0,15	0,24	0,15	0,21	0,13	0,10	0,32	0,12	0,19	0,34	0,34	0,27	0,16	0,23	0,27	0,18	1,16	1,07	0,81	1,01	0,86	0,53	1,88	0,83	1,89	2,16	1,90	1,16	0,78	1,01	2,31	0,64
C20:4n6	1,34	2,46	1,84	2,17	1,90	3,06	2,43	2,80	1,63	3,85	4,15	4,54	2,98	4,16	2,56	5,35	10,11	10,75	10,19	10,55	12,56	16,69	14,27	19,78	16,18	24,78	23,08	19,57	14,72	18,49	22,25	18,70
C20:5n3	0,53	0,08	0,09										0,58	0,12	0,11	0,00	4,02	0,35	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,86	0,52	0,94	0,00
C22:0		0,69	0,28	0,56	0,49	0,48	0,30	0,42	0,36	0,62	0,57	0,50	0,13	0,38	0,41	0,55	0,00	3,03	1,52	2,72	3,27	2,60	1,77	2,98	3,56	3,97	3,19	2,13	0,66	1,67	3,56	1,91
C22:2n6	0,00	0,04	0,00	0,04	0,00	0,63	0,00	0,01	0,00		0,06			0,00	0,00	0,18	0,00	0,18	0,00	0,19	0,00	3,41	0,00	0,06	0,00	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,62
C22:4n6		0,22				0,29	0,15		0,14	0,31	0,40	0,52	0,67	0,30	0,19	0,63	0,00	0,94	0,00	0,00	0,00	1,59	0,87	0,00	1,39	2,02	2,24	2,25	3,29	1,32	1,64	2,21
C22:5n3			0,11		0,26	0,83								0,47			0,00	0,00	0,60	0,00	1,71	4,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,06	0,00	0,00
C24:0	0,35	0,87	0,44	0,76	0,56	0,28	0,42	0,36	0,43	0,63	0,62	0,59	0,99	0,38	0,85	0,66	2,63	3,79	2,43	3,69	3,72	1,54	2,47	2,55	4,27	4,05	3,43	2,55	4,88	1,67	7,37	2,30
C22:6n3			0,11														0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C24:1n9	1,07	2,06	2,26	3,34	1,71	0,89	1,69	1,34	1,40	1,78	2,03	1,44	1,92	1,23	1,45	2,23	8,11	9,02	12,48	16,20	11,30	4,83	9,94	9,45	13,87	11,46	11,29	6,21	9,50	5,45	12,65	7,80
Summe	13,2	22,9	18,1	20,6	15,1	18,4	17,0	14,1	10,1	15,5	18,0	23,2	20,2	22,5	11,5	28,6	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 9.7: Prozentuale Anteile der gemessenen n3-Fettsäuren am Gesamtgehalt der Fettsäuren in der Phosphatidylserinfraktion der Erythrozytenmembranen der atopischen und der gesunden Hunde in Gew.%; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.a. = nicht ausgewertet, n.s. = nicht signifikant

Paar	C20:5n3		C22:5n3		C22:6n3	
	A	G	A	G	A	G
1	0,25	0,26	0,00	1,41	0,00	0,72
2	0,66	0,43	0,74	0,35	2,10	0,83
3	0,20	0,00	0,52	0,67	0,00	0,26
4	0,00	0,52	0,00	0,41	0,00	0,22
5	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,00	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,31	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00
8	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MW	0,24	0,22	0,16	0,35	0,26	0,25
SD	0,21	0,20	0,28	0,49	0,74	0,34
MD	0,026		-0,196		0,009	
95% C.I.	-0,102 bis 0,055		-0,644 bis 0,252		n.a.	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 9.8: Prozentuale Anteile der gemessenen n3-Fettsäuren am Gesamtgehalt der Fettsäuren in der Phosphatidylethanolaminfraktion der Erythrozytenmembranen der atopischen und der gesunden Hunde in Gew.%; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.s. = nicht signifikant

Paar	C18:3n3		C20:5n3		C22:5n3		C22:6n3	
	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,01	0,09	0,38	0,31	0,47	0,45	0,70	0,41
2	0,00	0,05	1,10	0,98	0,11	0,46	1,65	2,02
3	0,09	0,04	0,44	0,23	0,34	0,46	0,23	0,24
4	0,07	0,27	1,07	1,09	1,00	0,92	1,01	0,96
5	0,11	0,00	0,65	0,71	0,61	0,00	0,45	0,00
6	0,09	0,15	0,65	0,00	0,63	0,88	0,59	0,53
7	0,08	0,07	0,44	0,52	0,68	0,70	0,78	0,53
8	0,09	0,06	0,39	0,32	0,25	0,39	0,63	0,32
MW	0,07	0,09	0,64	0,52	0,51	0,53	0,76	0,63
SD	0,04	0,08	0,29	0,38	0,28	0,30	0,43	0,63
MD	-0,024		0,119		-0,024		0,130	
95% C.I.	-0,102 bis 0,055		-0,078 bis 0,315		-0,267 bis 0,220		-0,086 bis 0,346	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 9.9: Prozentuale Anteile der gemessenen n3-Fettsäuren am Gesamtgehalt der Fettsäuren des Cholesterols der Erythrozytenmembranen der atopischen und der gesunden Hunde in Gew.%; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.a. = nicht ausgewertet, n.s. = nicht signifikant

Paar	C18:3n3		C20:5n3		C22:5n3	
	A	G	A	G	A	G
1	0,00	0,35	4,02	0,35	0,00	0,00
2	0,00	0,27	0,48	0,00	0,60	0,00
3	0,00	0,22	0,00	0,00	1,71	4,52
4	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	0,34	0,60	2,86	0,52	0,00	2,07
8	0,52	0,25	0,94	0,00	0,00	0,00
MW	0,20	0,21	1,04	0,11	0,29	0,82
SD	0,23	0,21	1,55	0,21	0,61	1,66
MD	-0,015		0,930		-0,534	
95% C.I.	-0,274 bis 0,244		-0,218 bis 2,077		n.a.	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 9.10: Verhältnis AA/DGLA in den bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, k. NV. = keine Normalverteilung, n.s. = nicht signifikant

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	0,28	0,75	6,60	11,28	10,70	18,12	15,37	17,49	8,68	10,07
2	0,00	13,65	4,20	4,92	13,99	18,64	21,59	22,51	12,54	13,65
3	0,08	3,86	6,75	12,67	58,26	37,40	25,35	35,86	14,58	31,57
4	0,00	0,00	9,37	8,88	13,67	25,28	20,32	30,19	7,60	23,70
5	0,00	0,00	5,11	11,50	14,14	22,98	17,26	22,58	8,58	11,45
6	0,16	0,00	5,76	9,42	16,64	20,38	17,50	24,62	12,15	16,86
7	0,00	0,00	8,93	15,59	13,87	17,50	16,45	39,94	18,96	18,34
8	0,17	0,00	14,76	15,09	28,90	25,83	33,21	23,16	9,63	29,21
MW	0,09	2,28	7,69	11,17	21,27	23,27	20,76	27,04	11,59	19,36
SD	0,11	4,78	3,36	3,48	15,93	6,55	5,65	7,62	3,81	8,05
MD	-2,190		-3,484		-2,005		-6,287		-7,768	
95% C.I.	k. NV.		-5,92 bis -1,05		k. NV.		-14,09 bis 1,51		-14,71 bis -0,82	
Signifikanz	n.s.		P = 0,012		n.s.		n.s.		P = 0,033	

Tab. 9.11: Verhältnis LA/GLA in den bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, k.NV. = keine Normalverteilung, n.s. = nicht signifikant

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	6,00	0,61	244,01	212,77	15,21	9,38	63,18	38,53	5,94	8,56
2	0,00	0,69	950,68	358,84	17,50	13,38	78,59	56,50	4,85	5,14
3	1,25	3,62	215,65	208,78	8,46	9,20	57,83	37,94	22,60	6,50
4	75,00	7,63	151,42	156,86	12,60	4,73	39,56	36,03	8,73	6,23
5	1,29	0,53	287,15	265,33	13,08	5,67	53,44	0,00	5,59	6,28
6	1,67	0,00	235,64	260,94	12,15	1,75	66,41	24,62	18,05	0,00
7	0,00	6,68	255,31	221,15	12,98	19,69	51,28	47,25	7,74	8,78
8	2,00	0,37	177,03	91,11	10,01	7,38	38,22	42,15	7,00	9,65
MW	10,90	2,52	314,61	221,97	12,75	8,90	56,06	35,38	10,06	6,39
SD	25,97	3,08	260,61	79,06	2,80	5,58	13,57	16,98	6,57	3,01
MD	8,385		92,638		3,851		20,686		3,670	
95% C.I.	k. NV.		k. NV.		-0,73 bis 8,43		4,22 bis 37,15		k. NV.	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.		P = 0,021		n.s.	

Tab. 9.12: Verhältnis AA/LA in den bestimmten Lipidfraktionen der Erythrozytenmembranen; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, k. NV. = keine Normalverteilung, n.s. = nicht signifikant

Paar	SM		PC		PS		PE		CH	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
1	5,94	14,12	0,53	0,69	19,58	20,63	8,86	10,78	4,24	3,25
2	0,00	46,27	0,35	0,57	20,69	28,72	12,03	12,94	11,17	8,45
3	1,40	1,00	0,50	0,98	30,07	28,16	8,00	11,63	3,64	6,36
4	0,00	0,00	0,54	0,62	19,65	32,01	9,99	12,78	4,96	7,60
5	0,00	0,00	0,46	0,75	24,82	48,82	9,16	16,70	6,20	10,93
6	0,80	0,00	0,47	0,51	21,15	25,47	9,12	9,39	5,88	8,64
7	0,00	3,76	0,57	0,92	23,56	15,70	9,85	13,44	6,10	3,48
8	0,00	0,00	0,76	1,23	36,55	23,91	13,22	8,85	9,14	7,59
MW	1,02	8,14	0,52	0,78	24,51	27,93	10,03	12,06	6,42	7,04
SD	2,06	16,15	0,12	0,24	5,98	9,85	1,75	2,51	2,54	2,61
MD	-7,120		-0,261		-3,419		-2,034		-0,620	
95% C.I.	k. NV.		-0,400 bis -0,122		-13,13 bis 6,29		-4,88 bis 0,82		-3,04 bis 1,83	
Signifikanz	n.s.		P = 0,003		n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 9.13: Fettsäuregehalte im Plasma; FAME = Fettsäuremethylester, 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, (A) = Atopischer Hund, (G) = Gesunder Hund

	Fettsäuregehalte im Plasma in µg FAME								Fettsäuregehalte im Plasma in % FAME vom Gesamtgehalt																							
Paar	1		2		3		4		5		6		7		8		1		2		3		4		5		6		7		8	
	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G	A	G
C16:0	618,7	812,9	623,0	664,0	709,2	727,3	543,7	610,2	732,3	643,4	475,2	603,4	601,1	713,8	484,0	462,0	12,9	12,7	15,9	15,6	12,3	14,4	13,1	13,2	12,8	15,5	13,3	13,3	15,1	15,6	12,0	12,3
C16:1n7	32,8	51,7	37,8	37,0	76,2	40,6	74,6	34,9	49,5	36,3	29,0	49,1	24,5	40,8	41,1	44,8	0,7	0,8	1,0	0,9	1,3	0,8	1,8	0,8	0,9	0,9	0,8	1,1	0,6	0,9	1,0	1,2
C16:4n1	4,9	7,0	7,0	7,4	9,3	7,5	4,5	4,1	5,5	3,5	3,0	4,0	4,0	4,6	3,1	4,0	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
C18:0	924,6	1149	738,2	771,0	1067	823,2	749,9	749,4	1072	711,2	626,1	767,1	695,5	681,3	729,8	702,4	19,3	18,0	18,9	18,1	18,4	16,3	18,1	16,3	18,7	17,1	17,5	16,9	17,5	14,9	18,2	18,6
C18:1n9	428,6	682,0	512,4	478,2	576,6	613,9	440,2	452,7	604,9	453,8	403,4	496,7	378,4	430,8	326,5	327,4	9,0	10,7	13,1	11,2	10,0	12,1	10,6	9,8	10,5	10,9	11,3	10,9	9,5	9,4	8,1	8,7
C18:1n7	113,9	143,7	115,4	124,8	192,7	112,4	128,5	138,3	152,8	115,2	97,8	107,6	109,9	113,4	111,4	132,7	2,4	2,3	3,0	2,9	3,3	2,2	3,1	3,0	2,7	2,8	2,7	2,4	2,8	2,5	2,8	3,5
C18:2n6	1576	1949	1022	1190	1875	1461	1177	1186	1548	1104	1228	1498	1186	1349	1005	976,9	32,9	30,5	26,1	28,0	32,4	28,9	28,4	25,7	27,0	26,5	34,4	33,0	29,8	29,4	25,0	25,9
C18:3n6	12,0	20,4	7,6	7,4	19,3	19,5	13,8	15,4	14,8	15,2	6,0	13,2	11,8	15,7	22,9	12,9	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3	0,6	0,3
C18:3n3	15,2	33,9	7,7	6,8	47,7	27,7	13,2	15,9	25,3	15,8	14,2	16,2	7,8	10,8	6,9	6,8	0,3	0,5	0,2	0,2	0,8	0,5	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2
C18:4n3	2,8	3,5	6,7	7,7	5,9	3,3	3,5	2,0	4,3	2,5	2,6	3,1	3,1	2,5	3,3	2,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C20:0	5,2	5,4	3,3	4,4	4,8	3,9	3,3	7,7	5,2	3,7	2,2	3,2	3,9	3,6	5,1	2,9	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C20:1n9	7,1	8,8	7,1	7,9	9,6	7,7	5,1	12,1	6,4	5,3	6,3	7,5	4,6	5,2	3,5	3,9	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
C20:2n6	11,5	12,9	7,5	9,2	15,7	12,3	4,9	17,1	7,3	6,5	9,9	8,4	6,5	6,5	6,2	6,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
C20:3n6	58,8	43,8	56,2	59,8	75,9	44,7	36,6	40,7	75,8	36,0	54,9	62,3	42,3	34,8	25,4	22,6	1,2	0,7	1,4	1,4	1,3	0,9	0,9	0,9	1,3	0,9	1,5	1,4	1,1	0,8	0,6	0,6
C20:4n6	710,1	1142	565,0	647,7	849,4	914,9	719,4	869,8	1147	796,4	501,3	739,9	754,1	1010	1009	891,7	14,8	17,9	14,5	15,2	14,7	18,1	17,4	18,9	20,0	19,2	14,0	16,3	18,9	22,1	25,1	23,7
C20:4n3			30,5	2,3	1,5	19,6	8,6	69,2	16,2	14,3	1,9	1,7	10,3	15,8	0,0	0,0	0,8	0,1	0,0	0,4	0,2	1,5	0,3	0,3	0,1	0,0	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
C20:5n3	30,4	18,8	25,2	2,3	42,3	10,8	36,5	73,4	23,6	23,2	7,6	12,8	11,1	10,9	11,8	8,1	0,6	0,3	0,6	0,1	0,7	0,2	0,9	1,6	0,4	0,6	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2
C22:0	6,9	6,2	4,1	4,6	3,4	5,0	2,4	4,4	2,8	2,8	2,0	2,9	3,1	3,2	4,3	3,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C22:2n6	3,3	4,3	2,0	5,4	3,5	2,9	2,1	2,0	2,7	2,2	2,0	3,2	3,7	2,5	2,6	3,2	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C23:0	3,1	3,1	2,3	4,5	3,8	3,4	2,5	4,6	2,4	1,5	2,0	2,7	2,7	2,5	2,7	2,4	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C22:4n6	21,1	96,3	8,1	8,3	36,7	62,9	13,0	27,5	33,6	30,9	15,1	30,8	22,6	24,5	64,4	25,2	0,4	1,5	0,2	0,2	0,6	1,2	0,3	0,6	0,6	0,7	0,4	0,7	0,6	0,5	1,6	0,7
C22:5n3	88,1	122,2	30,3	54,2	105,8	96,0	77,0	160,4	152,3	71,1	47,3	61,9	56,6	59,4	100,0	71,1	1,8	1,9	0,8	1,3	1,8	1,9	1,9	3,5	2,7	1,7	1,3	1,4	1,4	1,3	2,5	1,9
C24:0	5,5	5,1	2,5	3,5	3,7	4,6	4,8	4,6	4,8	3,2	2,3	3,0	3,2	3,5	5,1	3,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
C22:6n3	92,8	48,6	76,2	129,9	46,7	28,9	72,3	94,9	41,0	52,2	22,5	35,3	29,6	28,7	38,7	44,9	1,9	0,8	2,0	3,1	0,8	0,6	1,7	2,1	0,7	1,3	0,6	0,8	0,7	0,6	1,0	1,2
C24:1n9	14,5	11,1	10,2	14,3	5,2	6,5	6,5	10,8	6,8	9,0	6,2	7,2	7,3	6,8	6,3	6,0	0,3	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
Summe	4788	6381	3908	4252	5786	5060	4144	4608	5738	4159	3568	4541	3983	4580	4019	3767	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Tab. 9.14: Verhältnisse ausgewählter n6-Fettsäuren im Plasma; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.s. = nicht signifikant

Paar	AA/DGLA		LA/GLA		AA/LA	
	A	G	A	G	A	G
1	12,08	26,09	131,55	95,57	0,45	0,59
2	10,05	10,82	133,76	160,55	0,55	0,54
3	11,20	20,47	97,03	74,92	0,45	0,63
4	19,68	21,35	85,32	77,18	0,61	0,73
5	15,13	22,15	104,58	72,56	0,74	0,72
6	9,13	11,86	203,23	113,41	0,41	0,49
7	17,85	28,99	100,84	85,89	0,64	0,75
8	39,79	39,50	43,88	75,96	1,00	0,91
MW	16,86	22,65	112,52	94,51	0,61	0,67
SD	9,99	9,25	46,19	30,01	0,19	0,14
MD	-5,790		18,019		-0,064	
95% C.I.	-10,24 bis -1,34		-14,08 bis 50,11		-0,142 bis 0,014	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.	

Tab. 9.15: Summe der n6- und der n3-Fettsäuren in Gew.% und das Verhältnis der beiden Fettsäurefamilien zueinander im Plasma; 1 bis 8 = Nummer des jeweiligen Paares, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, MD = Mittelwertdifferenz, C.I. = Konfidenzintervall, A = Atopische Hunde, G = Gesunde Hunde, n.s. = nicht signifikant

Paar	Summe n6-FS		Summe n3-FS		n6-FS/n3-FS	
	A	G	A	G	A	G
1	49,97	51,22	4,79	3,55	10,43	14,43
2	42,70	45,34	3,74	4,71	11,42	9,07
3	49,68	49,76	4,29	3,29	11,58	15,12
4	47,46	46,83	4,89	7,51	9,71	6,24
5	49,32	47,87	4,28	3,97	11,52	12,06
6	50,91	51,88	2,63	2,85	19,36	18,2
7	50,88	50,29	2,72	2,30	18,71	21,87
8	53,13	51,46	3,99	3,53	13,32	14,58
MW	48,70	49,03	3,91	4,03	13,25	13,86
SD	2,89	2,41	0,92	1,72	4,02	5,31
MD	-0,330		-0,048		-0,690	
95% C.I.	-1,302 bis 1,15		-1,089 bis 0,994		-3,04 bis 1,66	
Signifikanz	n.s.		n.s.		n.s.	



Tab. 9.16: Blindwerte der Fettsäuren für die einzelnen Lipidfraktionen (Vierfachbestimmung) in µg FAME; SM = Sphingomyelin, PC = Phosphatidylcholin, PS = Phosphatidylserin, PE = Phosphatidylethanolamin, CH = Cholesterol, BW = Blindwert, MW = Mittelwert

Fraktion	Blindwerte in µg FAME										MW
	SM		PC		PS		PE		CH		
	BW1 BW2	BW3 BW4	BW1 BW2	BW3 BW4	BW1 BW2	BW3 BW4	BW1 BW2	BW3 BW4	BW1 BW2	BW3 BW4	
C16:0	3,627	1,868	2,576	2,274	2,790	2,324	3,111	2,005	3,703	2,55	2,373
	2,751	1,847	2,374	2,037	2,556	1,859	2,207	1,849	1,997	1,163	
C16:1n7	0,047	0,044	0,029	0,040	0,061	0,044	0,041	0,060	0,087	0,056	0,050
	0,080	0,040	0,046	0,038	0,055	0,050	0,055	0,044	0,048	0,038	
C18:0	2,560	0,519	1,605	1,052	1,811	2,044	2,305	0,896	1,937	1,867	1,292
	1,289	0,857	0,977	0,774	1,066	0,725	0,975	0,475	0,660	1,442	
C18:1n9	0,413	0,132	0,200	0,152	0,282	0,147	0,126	0,348	0,417	0,239	0,265
	1,243	0,123	0,244	0,122	0,330	0,125	0,124	0,094	0,230	0,216	
C18:2n6	0,100		0,072		0,051	0,053	0,030	0,083	0,055	0,040	0,068
	0,259	0,028	0,048		0,067		0,044	0,057	0,050	0,044	
C18:3n6	0,035	0,04	0,065	0,044	0,042	0,046	0,050	0,064	0,060	0,042	0,047
	0,043	0,036	0,042	0,044	0,047	0,042	0,064		0,042	0,040	
C20:0	0,117	0,061	0,125	0,065	0,071	0,058	0,095	0,058	0,090	0,084	0,071
	0,076	0,043	0,042	0,031	0,059		0,084	0,052	0,053	0,082	
C20:2n6		0,027	0,111	0,059			0,047	0,032	0,072		0,056
			0,064	0,072		0,033	0,050	0,051	0,049		
C20:4n3			0,116	0,085	0,234	0,051	0,099		0,198		0,106
	0,130		0,024	0,050						0,074	
C22:2n6	0,110	0,054	0,044	0,088	0,047	0,091	0,079	0,091	0,085		0,076
	0,048	0,091	0,061	0,084	0,086	0,037	0,120	0,055		0,092	
C24:0	0,130	0,039	0,119	0,036	0,120		0,078	0,098	0,131	0,082	0,085
	0,081		0,048		0,064				0,089	0,080	

## **Danksagung**

Ich möchte mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. H. Fuhrmann möchte ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Betreuung danken. Danke für Ihre schnellen Korrekturen und die fachliche Beratung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. G. Oechtering danke ich für die Bereitstellung von Probanden, die Möglichkeit, meine dermatologischen Kenntnisse auszubauen und zu festigen sowie für die Hilfe bei der praktischen Ausführung der Allergietests.

Allen Mitarbeitern des Veterinär-Physiologisch-Chemischen Instituts danke ich für die freundliche Aufnahme und Zusammenarbeit. Bei Dr. Th. Gück möchte ich mich besonders für die Betreuung bei der Ausarbeitung der Methoden sowie für die Hilfe bei der Anfertigung der Dissertationsschrift bedanken. Vielen Dank für die vielen aufmunternden Worte, die mir besonders in den letzten Wochen sehr geholfen haben.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. J. Gottschalk und Herrn Dr. E. Schuster, die mir mit Rat und Tat bei der statistischen Auswertung zur Seite gestanden haben.

Ein herzlicher Dank gilt Frau R. Pohle, die während der praktischen Arbeiten mein steter Schatten war und mich in die Labormethoden eingearbeitet sowie kompetent bei der Durchführung unterstützt hat.

Danken möchte ich auch Frau Dr. A. Seidel und Frau G. Dobeleit für die Durchführung der Gaschromatographie.

Den anderen Doktoranden danke ich für das freundschaftliche Verhältnis: ich freute mich auf jeden Tag, den ich im Institut verbracht habe. Frau Dr. C. Simon danke ich für eine weitere Korrektur meiner Arbeit.

Weiterhin danke ich dem Labor Laboklin (Bad Kissingen), insbesondere Frau B. Hunsinger, für die Durchführung der IgE-Tests und die fachliche Beratung hinsichtlich der Auswertung dieser Tests.

Bei meiner Familie bedanke ich mich für die endlose Geduld und liebevolle Unterstützung.

-DANKE-